



ISSN: 2686-9039 Online

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

**South Russian
Journal of Cancer**

PEER-REVIEWED SCIENTIFIC AND PRACTICAL

ТОМ
vol. **4** № **3/2023**

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 journal is subscribed via the electronic editorial system on the website. For 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 14.09.2023.

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 14.09.2023.

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

- Experience in surgical treatment of vertebral metastatic tumors of craniovertebral localization
O. I. Kit, D. E. Zakondyrin, E. E. Rostorguev, V. E. Rostorguev, A. A. Maslov 6
- Clinical and morphological features of bladder cancer course in HPV-infected patients
A. A. Pulatova, S. N. Dimitriadi, D. S. Kutilin, T. A. Zyкова, E. M. Frantsiyants, E. A. Shevyakova, V. K. Hwan, S. I. Goncharov 12
- Prospects of differential diagnosis of focal lesion of pancreas by the microRNA assessment
M. S. Kniazeva, T. M. Shestopalova, L. M. Zabegina, A. V. Shalaev, A. K. Ratnikova, V. A. Kashchenko, S. L. Vorobyev, A. V. Malek 20
- Gastric cancer modeling in immunodeficient mice with orthotopic xenotransplantation
L. Z. Kurbanova, T. S. Karasev, A. S. Goncharova, E. N. Kolesnikov, A. Yu. Maksimov, M. A. Averkin, A. V. Galina, M. V. Romanova, M. A. Gusareva, M. S. Zinkovich 36

CLINICAL CASE REPORTS

- A rare clinical case of syringomyelia progression in the presence of Chiari I malformation following the surgery
E. E. Rostorguev, N. S. Kuznetsova, A. A. Maslov, V. E. Hatyushin, B. V. Matevosyan, G. A. Reznik, O. V. Pandova, E. V. Shalashnaya 44
- Clinical observation of patients with primary multiple malignant tumors, including primary multiple melanoma
Yu. A. Gevorkyan, N. V. Soldatkina, O. K. Bondarenko, I. N. Mironenko, V. E. Kolesnikov, A. V. Dashkov 51

REVIEW

- Immunotherapy for epithelial tumors of the thymus
O. I. Kit, D. A. Kharagezov, Yu. N. Lazutin, E. A. Mirzoyan, A. G. Milakin, O. N. Stateshny, T. G. Ayrapetova, I. A. Leyman, M. A. Gappoeva, V. N. Vitkovskaya, K. D. Iozefi, M. A. Khomidov 56

ОРИГИНАЛЬНЫЕ
СТАТЬИ

Опыт хирургического лечения метастатических опухолей
позвонков краниовертебральной локализации
О. И. Кит, Д. Е. Закондырин, Э. Е. Росторгуев, В. Э. Росторгуев, А. А. Маслов..... 6

Клинико-морфологические особенности течения рака мочевого
пузыря у ВПЧ-инфицированных больных
*А. А. Пулатова, С. Н. Димитриади, Д. С. Кутилин, Т. А. Зыкова,
Е. М. Франциянц, Е. А. Шевякова, В. К. Хван, С. И. Гончаров*..... 12

Возможность дифференциальной диагностики очаговых
образований поджелудочной железы путем анализа микроРНК
*М. С. Князева, Т. М. Шестопалова, Л. М. Забегина, А. В. Шалаев,
А. К. Ратникова, В. А. Кащенко, С. Л. Воробьев, А. В. Малек* 20

Моделирование рака желудка на иммунодефицитных мышах
путем ортотопической ксенотрансплантации
*Л. Э. Курбанова, Т. С. Карасёв, А. С. Гончарова, Е. Н. Колесников, А. Ю. Максимов,
М. А. Аверкин, А. В. Галина, М. В. Романова, М. А. Гусарева, М. С. Зинькович*..... 36

КЛИНИЧЕСКИЕ
НАБЛЮДЕНИЯ

Редкий клинический случай прогрессирования синингомиелии на
фоне аномалии Киари I типа, после оперативного вмешательства
*Э. Е. Росторгуев, Н. С. Кузнецова, А. А. Маслов, В. Е. Хатюшин,
Б. В. Матевосян, Г. А. Резник, О. В. Пандова, Е. В. Шалашная*..... 44

Клиническое наблюдение пациентки с первично-множественными
злокачественными опухолями, включающими первично-
множественную меланому
*Ю. А. Геворкян, Н. В. Солдаткина, О. К. Бондаренко,
И. Н. Мироненко, В. Е. Колесников, А. В. Дашков* 51

ОБЗОР

Иммунотерапия эпителиальных опухолей вилочковой железы
*О. И. Кит, Д. А. Харагезов, Ю. Н. Лазутин, Э. А. Мирзоян, А. Г. Милакин,
О. Н. Статешный, Т. Г. Айрапетова, И. А. Лейман, М. А. Гаппоева,
В. Н. Витковская, К. Д. Иозефи, М. А. Хомидов* 56

ОПЫТ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ МЕТАСТАТИЧЕСКИХ ОПУХОЛЕЙ ПОЗВОНКОВ КРАНИОВЕРТЕБРАЛЬНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ

О. И. Кит¹, Д. Е. Закондырин^{2✉}, Э. Е. Росторгуев¹, В. Э. Росторгуев³, А. А. Маслов³

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

2. МГМСУ им. А. И. Евдокимова, г. Москва, Российская Федерация

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

✉ russiandoctor@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Разработка методики хирургического лечения пациентов с метастатическим поражением краниовертебральной области.

Пациенты и методы. В исследование включено 7 больных с метастатическим поражением краниовертебральной области, оперированных по поводу выраженной нестабильности, болевого синдрома, неврологического дефицита в период с 01.01.2014 по 30.09.2022 гг. Для оценки неврологического статуса и состояния пациентов использовали шкалы Frankel и Karnofsky в день поступления и выписки пациентов из стационара. Интенсивность болевого синдрома оценивали по визуально аналоговой шкале боли (ВАШ). Для оценки нестабильности в пораженном позвоночно-двигательном сегменте пользовались шкалой SINS. Всем пациентам выполнено паллиативное хирургическое лечение в объеме окципитоспондилодеза с биопсией новообразования из заднего доступа.

Результаты. Средний возраст больных составил 60 [44; 66] лет. У всех пациентов до операции отмечался выраженный болевой синдром, средняя интенсивность боли по визуально аналоговой шкале боли составляла 8 баллов. В предоперационном периоде 6 (85 %) больных по шкале Frankel отнесены к группе E, 1 (14 %) – к группе C. После операции у 6 (85 %) больных динамика неврологического статуса отсутствовала, однако по шкале Karnofsky отмечалось улучшение до 10 баллов вследствие регресса болевого синдрома до 1 балла по визуально аналоговой шкале боли. У 1 (14 %) больного вследствие мальпозиции ламинарного крючка в послеоперационном периоде развился гемипарез. Средняя продолжительность выполненных оперативных вмешательств составила 337,5 [315; 345] мин, средняя интраоперационная кровопотеря – 300 [300; 800] мл. У 6 из 7 больных (85 %) динамика неврологического статуса после операции отсутствовала, а по шкале Karnofsky отмечалось улучшение до 10 баллов вследствие регресса болевого синдрома до среднего значения 1 [1; 2] балл по ВАШ.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о возможностях клинического применения минимальных по травматичности технологий в хирургическом лечении метастатических опухолей краниовертебральной зоны.

Ключевые слова: метастатические опухоли, краниовертебральная область, хирургическое лечение

Для цитирования: Кит О. И., Закондырин Д. Е., Росторгуев Э. Е., Росторгуев В. Э., Маслов А. А. Опыт хирургического лечения метастатических опухолей позвонков краниовертебральной локализации. Южно-Российский онкологический журнал. 2023; 4(3): 6-11. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-3-1>, <https://elibrary.ru/ysuvmk>

Для корреспонденции: Закондырин Дмитрий Евгеньевич – к.м.н., врач-нейрохирург, ФГБУ ВО «МГМСУ им. А. И. Евдокимова» Минздрава России, г. Москва, Российская Федерация.

Адрес: 127473, Российская Федерация, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

E-mail: russiandoctor@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0925-415X>

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 № 118 от 02.06.2022 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 21.10.2022; одобрена после рецензирования 05.07.2023; принята к публикации 14.09.2023.

© Кит О. И., Закондырин Д. Е., Росторгуев Э. Е., Росторгуев В. Э., Маслов А. А., 2023

EXPERIENCE IN SURGICAL TREATMENT OF VERTEBRAL METASTATIC TUMORS OF CRANIOVERTEBRAL LOCALIZATION

O. I. Kit¹, D. E. Zakondyrin^{2✉}, E. E. Rostorguev¹, V. E. Rostorguev³, A. A. Maslov³

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

2. Moscow State Medical and Dental University named after A. I. Evdokimov, Moscow, Russian Federation

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

✉ russiandoctor@mail.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. Elaboration of a surgical technique to manage patients with metastatic lesions of the craniovertebral region.

Patients and methods. The study included 7 patients with metastatic lesions of the craniovertebral region, who've been operated on for severe instability, pain syndrome, neurological deficit in the period from 01/01/2014 to 09/30/2022. To assess the neurological status and patients' condition the Frankel and Karnofsky scales were used on the day of admission and discharge of the patients from the hospital. Pain intensity was assessed using a visual analog pain scale (VAS). To assess instability in the affected spinal motion segment the SINS scale was used. All patients underwent palliative surgical treatment in the amount of occipitospondylodesis with a biopsy of the neoplasm from the posterior approach.

Results. The average age of patients was 60 [44; 66] years. All patients had a marked pain syndrome prior to the surgery. The average pain intensity according to the visual analog pain scale was 8 points. In the preoperative period, 6 (85 %) patients on the Frankel scale were assigned to group E, 1 (14 %) – to group C. In 6 (85 %) patients there was no dynamics in the neurological status following the surgery, however according to the Karnofsky scale there was an improvement up to 10 points due to the regression of the pain syndrome down to 1 point on the visual analog scale. Hemiparesis developed in 1 (14 %) patient due to malposition of the laminar hook in the postoperative period. The average duration of surgical interventions made up 337.5 [315; 345] min, the average intraoperative blood loss made up 300 [300; 800] ml. In 6 out of 7 patients (85 %) there was no neurological status dynamics after the surgery, and according to the Karnofsky scale an improvement up to 10 points was noted due to regression of the pain syndrome to an average value of 1 [1; 2] VAS score.

Conclusion. The obtained results indicate the clinical application possibilities of minimally traumatic surgical technologies for the treatment of craniovertebral zone metastatic tumors.

Keywords: metastatic tumors, craniovertebral area, surgical treatment

For citation: Kit O. I., Zakondyrin D. E., Rostorguev E. E., Rostorguev V. E., Maslov A. A. Experience in surgical treatment of vertebral metastatic tumors of craniovertebral localization. South Russian Journal of Cancer. 2023; 4(3):6-11. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-3-1>, <https://elibrary.ru/ysuvmk>

For correspondence: Dmitry E. Zakondyrin – Cand. Sci. (Med.), MD, neurosurgeon, Moscow State Medical and Dental University named after A. I. Evdokimov, Moscow, Russian Federation.
Address: 20/1 Delegatskaya str., Moscow 127473, Russian Federation
E-mail: russiandoctor@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0925-415X>

Compliance with ethical standards: The ethical principles presented by the World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ed. 2013, were observed in the work. The study was approved by the Committee on Biomedical Ethics at the National Medical Research Centre for Oncology (extract from the protocol of the meeting No. 118 dated 06/02/2022). 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 21.10.2022; approved after reviewing 05.07.2023; accepted for publication 14.09.2023.

ВВЕДЕНИЕ

Метастатическое поражение верхне-шейных сегментов позвоночного столба встречается не более чем в 0,5–1 % наблюдений. По причине низкой частоты поражения верхне-шейных позвонков большинство исследований в доступной литературе представлены малыми сериями больных. Наиболее часто поражается тело второго шейного позвонка вследствие его размеров и обильного кровоснабжения. Основной проблемой данной категории больных является нестабильность позвоночника, которая кроме сильного болевого синдрома (у 90 % больных) может проявляться симптомами компрессии верхних отделов спинного мозга такими как тетрапарез (у 0–20 % пациентов), а при развитии восходящего отека даже остановкой дыхания и смертью [1; 2]. Таким образом фиксация позвоночника выходит на первый план в хирургии метастатических поражений краниовертебральной области. Наружные методы фиксации (воротник, Halo-аппарат) неудобны и способны при длительном применении вызывать различные осложнения в среднем у 40 % больных, не получено убедительных данных об их эффективности [3]. Предпочтительными являются методы внутренней фиксации.

Согласно данным литературы, существует несколько типов хирургической тактики. Первый и наименее радикальный вариант подразумевает применение окципитоспондилодеза из заднего доступа без резекции опухоли [3; 4]. Преимущество заднего доступа объясняется особенностями распределения осевой нагрузки в краниовертебральной области, где 64 % ее приходится на задние структуры, а не на передние как в поясничном отделе позвоночника. Использование

затылочных пластин с бикортикальными винтами и винтов для боковых масс является методом выбора в связи с высокой усталостной прочностью и торсионной устойчивостью конструкции.

Второй вариант хирургической тактики подразумевает дополнение задней фиксации вертебропластикой транспедикулярным доступом [5], реже трансоральным доступом [6].

Третий и наиболее радикальный вариант тактики помимо фиксации из заднего доступа подразумевает внутриопухолевую резекцию новообразования через ретрофарингеальный [7; 8] и даже трансмандибулярный [9] подход. Таким образом, проблема выбора оптимальной тактики в хирургическом лечении метастатических опухолей позвоночника, в том числе и краниовертебральной локализации до сих пор остается недостаточно разработанной.

Цель исследования: разработка методики хирургического лечения пациентов с метастатическим поражением краниовертебральной области.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 7 больных с поражением краниовертебральной области из числа 145 пациентов, оперированных по поводу метастатических опухолей позвонков, в период с 01.01.2014 по 30.06.2022 гг. в отделении нейроонкологии Национального медицинского исследовательского центра онкологии и отделении нейрохирургии МГМСУ им. А. И. Евдокимова.

Для оценки неврологического статуса и состояния пациентов использовали шкалы Frankel и Karnofsky в день поступления и выписки пациента из стационара. Интенсивность болевого синдрома оценивали



Рис. 1. Окципитоспондилодез у пациентки № 3. А – данные компьютерной томографии до операции. Б, В – данные компьютерной томографии после операции.

по визуальной аналоговой шкале боли (ВАШ). Для оценки нестабильности в пораженном позвоночно-двигательном сегменте пользовались шкалой SINS.

Всем пациентам выполнено паллиативное хирургическое лечение в объеме окципитоспондилодеза с биопсией новообразования из заднего доступа. Окципитоспондилодез выполнялся с использованием конструкции, состоящей из затылочных пластин и шейных винтов, вводимых в боковые массы, или ламинарных крючков (на выбор хирурга) (рис. 1.).

Все необходимые данные пациентов фиксировали в электронной базе данных Microsoft Excel, после чего проводили анализ данных в программе Statistica 7.0. Для каждой группы показателей определяли тип распределения данных (построение гистограмм по критерию согласия Колмогорова-Смирнова). При отклонении распределения от нормального для описания использовали значения медианы, 1-го и 3-го квартилей (Me [Q1; Q3]).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследуемая группа пациентов проанализирована по таким признакам как: пол, возраст, гистологический тип первичной опухоли, локализация метастатического поражения, показатели по шкалам Frankel, Karnofsky, ВАШ, SINS (табл. 1).

Средний возраст больных составил 60 [44; 66] лет. У всех больных отмечалась передняя и переднебоковая локализация новообразования с преимущественным поражением тел позвонков, у 2 (28 %) пациентов

отмечалось одностороннее прорастание опухолью позвоночной артерии. У 6 (85 %) больных степень эпидуральной компрессии соответствовала 1 степени, у 1 (14 %) пациента – 3 степени (за счет патологического вывиха позвонка). Средний балл по шкале SINS среди всех больных данной шкале составил 8,5 [7; 9]. У всех пациентов до операции отмечался выраженный болевой синдром, средняя интенсивность боли по ВАШ составила 8 [7; 8] баллов.

Сопутствующие висцеральные метастазы выявлены у 2 (28 %) пациентов, метастазы в другие кости – у 2 (28 %) больных, у 1 пациентки одновременно диагностировано метастатическое поражение печени, легких, костей таза и позвоночного столба.

Средняя продолжительность выполненных оперативных вмешательств составила 337,5 [315; 345] мин, средняя интраоперационная кровопотеря – 300 [300; 800] мл. Интраоперационное осложнение в виде мальпозиции ламинарного крючка с компрессией спинного мозга и развитием гемипареза в раннем послеоперационном периоде отмечалось у 1 пациентки.

В группе пациентов проанализирована динамика неврологических расстройств по шкале Frankel, функционального статуса больного по шкале Karnofsky после хирургической стабилизации. У 6 из 7 больных (85 %) динамика неврологического статуса после операции отсутствовала, а по шкале Karnofsky отмечалось улучшение до 10 баллов вследствие регресса болевого синдрома до среднего значения 1 [1; 2] балл по ВАШ.

Таблица 1. Характеристики оперированных пациентов

Пациент	Возраст, лет	Пол	Гистология	Локализация опухоли	По Frankel	По Karnofsky баллы	ВАШ баллы	SINS баллы
1	66	Ж	Карцинома БДУ	C1-C2	Е	70	7	11
2	67	М	Карцинома БДУ	C1-C2	С	50	8	9
3	44	Ж	Светлоклеточная карцинома почки	C2	Е	70	8	7
4	37	М	Светлоклеточная карцинома почки	C1	Е	70	7	7
5	59	Ж	Светлоклеточная карцинома почки	C2	Е	50	10	8
6	61	М	Аденокарцинома легкого	C2-C3	Е	60	8	9
7	60	М	Карцинома БДУ	C2	Е	70	7	7

Примечание: БДУ – без дополнительных уточнений.

ОБСУЖДЕНИЕ

Целью оперативного вмешательства при метастатическом поражении краниовертебральной локализации поражения не может быть радикальное удаление опухоли. Даже блок резекция эффективна только в отношении локального контроля метастаза, при условии выполнения ее в пределах здоровых тканей, но неспособна предотвратить прогрессирование метастатического поражения в целом [12]. Внутритропухлевая циторедукция вторичного образования на уровнях C1-C2 на наш взгляд, хирургически крайне сложна, что соответствует данным литературных публикаций (табл. 2).

Анализ публикаций показывает, что дополнение задней фиксации при поражении C1-C2 сегментов внутритропухлевой циторедукцией существенно удлиняет продолжительность операции, значительно увеличивает интраоперационную кровопотерю и хирургические риски, при сходных результатах степени регресса болевого синдрома в ближайшем и отдаленном послеоперационном периоде.

Польза хирургической декомпрессии при развившихся явлениях выраженной эпидуральной компрессии спинного мозга опухолью на первый взгляд кажется очевидной. Однако, Uei H. с соавт. [13] при выборе объема декомпрессии ведущим фактором считают не степень эпидуральной компрессии спинного мозга, а выраженность пареза конечностей и рекомендуют применять декомпрессию при степени пареза D2 и более. Uei H. с соавт. [13], считают, что прямой корреляции между выраженностью пареза и степенью эпидуральной компрессии не существует. Uei H. с соавт. и другие авторы сообщают о преимуществах стабилизации без декомпрессии над декомпрессивно-

стабилизирующими вмешательствами у больных с метастатическим поражением позвонков даже со 2–3 степенью эпидуральной компрессии без неврологического дефицита [13; 14].

В данной работе отмечено, что у пациентов манифестация и клиническая картина заболевания, обусловленная двигательным дефицитом (группа С по Френкель), была только у 1 (17 %) больного, у остальных пациентов не выявлено нарушение функции поперечной проводимости спинного мозга на уровнях C1-C2 сегментов. Выраженная МРТ картина эпидуральной компрессии была представлена также только в одном случае, но у другого пациента. Таким образом, показаний к проведению декомпрессии позвоночного канала в представленной нами группе больных выявлено не было.

Учитывая топографо-анатомические особенности краниовертебральной области, высокие риски развития нестабильности краниоспинальной зоны, сопровождающиеся выраженным болевым синдромом при ее метастатическом поражении, применение технологии изолированной стабилизации позвоночника представляется наиболее щадящей в лечении данной категории больных. Это косвенно подтверждается и тем фактом, что большинство доступных публикаций по теме хирургического лечения метастатического поражения краниовертебральной области описывают именно эту технологию [3-6].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами данные свидетельствуют о клинически удовлетворительных результатах применения минимальных по травматичности технологий в хирургическом лечении метастатических опухолей краниовертебральной зоны.

Таблица 2. Данные литературы о различных видах оперативных вмешательств, выполненных пациентам с метастатическим поражением краниовертебральной области

Вид вмешательства	Авторы	Количество пациентов	Длительность операции (мин)	Кровопотеря (мл)	Частота осложнений	Регресс болевого синдрома по шкале ВАШ
ОСД*	Rustagi T. с соавт., 2019 [3]	39	235,0 ± 51,9	364,8 ± 252,1	8 %	с 8,3 ± 1,5 до 1,0 ± 1,1 (p < 0,001)
ОСД + ВП*	Wu X. с соавт., 2018 [5]	10	182 (120–255)	450 (250–850)	10 %	с 8,2 ± 0,4 до 2,3 ± 0,2 (p < 0,001)
ОСД + РВ*	Wu X. с соавт., 2016 [7]	15	252 (150–300)	1240 (760–2200)	27 %	с 7,86 ± 1,72 до 2,13 ± 1,40 (p < 0,01)

Примечание: ОСД – окципитоспондилодез; ОСД + ВП – комбинация окципитоспондилодеза и вертебропластики; ОСД + РВ – комбинация окципитоспондилодеза и резекции опухоли из ретрофарингеального/заднего доступа.

Список источников

1. Кит О. И., Закондырин Д. Е., Росторгуев Э. Е., Юндин С. В. Особенности хирургического лечения синдрома эпидуральной компрессии у пациентов со злокачественными опухолями позвонков. Креативная хирургия и онкология. 2022;12(1):21–27. <https://doi.org/10.24060/2076-3093-2022-12-1-21-27>, EDN: RVNZJH
2. O'Sullivan MD, Lyons F, Morris S, Synnott K, Munigangaiah S, Devitt A. Metastasis Affecting Craniocervical Junction: Current Concepts and an Update on Surgical Management. *Global Spine J.* 2018 Dec;8(8):866–871. <https://doi.org/10.1177/2192568218762379>
3. Rustagi T, Mashaly H, Mendel E. Posterior occiput-cervical fixation for metastasis to upper cervical spine. *J Craniovertebr Junction Spine.* 2019;10(2):119–126. https://doi.org/10.4103/jcvjs.JCVJS_29_19
4. Thirunavu V, Dahdaleh NS. Management of Atlantoaxial Instability Due to a Pathological Fracture of the Axis. *Cureus.* 2020 Jul 1;12(7):e8951. <https://doi.org/10.7759/cureus.8951>
5. Wu X, Tan M, Qi Y, Yi P, Yang F, Tang X, et al. Posterior decompression and occipitocervical fixation followed by intraoperative vertebroplasty for metastatic involvement of the axis. *BMC Musculoskelet Disord.* 2018 Jan 11;19(1):11. <https://doi.org/10.1186/s12891-018-1928-7>
6. Kim KM, Yoon JH, Kwon JW, Gwak HS. Transoral Vertebroplasty for Osteolytic C2 Metastasis: Report of 2 Cases. *Nerve.* 2019 Apr 30;5(1):22–25. <https://doi.org/10.21129/nerve.2019.5.1.22>
7. Wu X, Ye Z, Pu F, Chen S, Wang B, Zhang Z, et al. Palliative Surgery in Treating Painful Metastases of the Upper Cervical Spine: Case Report and Review of the Literature. *Medicine (Baltimore).* 2016 May;95(18):e3558. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000003558>
8. Viola Á, Kozma I, Süvegh D. Surgery for craniocervical junction pathologies: minimally invasive anterior submandibular retropharyngeal key-hole approach. *BMC Surg.* 2021 Apr 19;21(1):199. <https://doi.org/10.1186/s12893-021-01198-z>
9. Logroscino CA, Casula S, Rigante M, Almadori G. Transmandible approach for the treatment of upper cervical spine metastatic tumors. *Orthopedics.* 2004 Oct;27(10):1100–1103. <https://doi.org/10.3928/0147-7447-20041001-22>
10. Ohashi M, Hirano T, Watanabe K, Hasegawa K, Ito T, Katsumi K, et al. En Bloc Spondylectomy for Spinal Metastases: Detailed Oncological Outcomes at a Minimum of 2 Years after Surgery. *Asian Spine J.* 2019 Apr;13(2):296–304. <https://doi.org/10.31616/asj.2018.0145>
11. Uei H, Tokuhashi Y, Maseda M, Nakahashi M, Sawada H, Nakayama E, et al. Comparison between minimally invasive spine stabilization with and without posterior decompression for the management of spinal metastases: a retrospective cohort study. *J Orthop Surg Res.* 2018 Apr 16;13(1):87. <https://doi.org/10.1186/s13018-018-0777-2>
12. Jung JM, Chung CK, Kim CH, Yang SH. Minimally Invasive Surgery without Decompression for Hepatocellular Carcinoma Spinal Metastasis with Epidural Spinal Cord Compression Grade 2. *J Korean Neurosurg Soc.* 2019 Jul;62(4):467–475. <https://doi.org/10.3340/jkns.2018.0199>

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

Закондырин Дмитрий Евгеньевич ✉ – к.м.н., врач-нейрохирург, ФГБУ ВО «МГМСУ им. А. И. Евдокимова» Минздрава России, г. Москва, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0925-415X>

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

Росторгуев Владимир Эдуардович – аспирант кафедры травматологии и ортопедии, лечебной физкультуры и спортивной медицины, врач травматолог-ортопед, ФГБОУ ВО «РостГМУ» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

Маслов Александр Андреевич – студент 4 курса, ФГБОУ ВО «РостГМУ» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

Участие авторов:

Кит О. И. – разработка дизайна исследования, редактирование текста статьи, анализ результатов;
Закондырин Д. Е. – разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, написание текста рукописи;
Росторгуев Э. Е. – разработка дизайна исследования, набор клинического материала, интерпретация результатов;
Росторгуев В. Э. – обзор публикаций по теме статьи; анализ полученных данных;
Маслов А. А. – обзор публикаций по теме статьи; анализ полученных данных.

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ У ВПЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ

А. А. Пулатова[✉], С. Н. Димитриади, Д. С. Кутилин, Т. А. Зыкова, Е. М. Франциянц,
Е. А. Шевякова, В. К. Хван, С. И. Гончаров

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

[✉] dr.pulatova05@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучение гистологического типа, степени дифференцировки опухоли, у больных первичным и рецидивирующим клинически немышечно-инвазивным раком мочевого пузыря (НМИРМП) при инфекции вирусом папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенного риска.

Пациенты и методы. Изучены образцы фиксированных в формалине и залитых в парафин тканей опухолей мочевого пузыря у 159 пациентов, перенесших трансуретральную резекцию (ТУР) мочевого пузыря на наличие ДНК ВПЧ. Для выявления, количественного определения и дифференциации ДНК ВПЧ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 генотипов в образцах использовали набор реагентов «АмплиСенс® ВПЧ ВКР генотип-титр-FL». Результаты учитывались при количестве ДНК β-глобинового гена не менее 1000 копий на реакцию. Для проведения статистического анализа полученных нами данных, мы использовали точный критерий Фишера, а также рассчитывали отношение шансов (OR) с 95 % ДИ (CI).

Результаты. По результатам исследования из 159 пациентов ДНК ВПЧ высокого риска была обнаружена в ткани опухоли у 59 (37,1 %), из них ВПЧ 16 типа у 52-ти больных (89,4 %), у 4-х выявлен ВПЧ 18 типа (6,7 %) и 35 типа у 3-х (5,08 %). При морфологическом исследовании тканей ВПЧ-позитивных пациентов степень дифференцировки опухоли в 18 случаях (30,5 %) являлась G2, в 37 блоках - G3 и лишь в 4 случаях (6,7 %) выявлен G1. При наличии ВПЧ повышается в 4,3 раза шанс обнаружения опухоли стадии G3. По полученным данным мы можем предположить, что имеется тесная связь между выявлением у пациентов ВПЧ генотипов высокого риска с наличием умеренно дифференцированных и низкодифференцированных форм рака мочевого пузыря (РМП).

Закключение. Данное исследование может свидетельствовать о том, что ВПЧ инфекция влияет на степень дифференцировки опухоли, а это в свою очередь, может позволить использовать ВПЧ-тест для оценки характера развития рецидива и/или прогрессирования заболевания.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря, вирус папилломы человека, уротелиальная карцинома, трансуретральная резекция мочевого пузыря

Для цитирования: Пулатова А. А., Димитриади С. Н., Кутилин Д. С., Зыкова Т. А., Франциянц Е. М., Шевякова Е. А., Хван В. К., Гончаров С. И. Клинико-морфологические особенности течения рака мочевого пузыря у ВПЧ-инфицированных больных. Южно-Российский онкологический журнал. 2023; 4(3):12-19. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-3-2>, <https://elibrary.ru/zeclwt>

Для корреспонденции: Пулатова Алина Асланхановна – аспирант, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

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

E-mail: dr.pulatova05@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1220-3297>

SPIN: 3434-8788, AuthorID: 1171088

ResearcherID: ХЯ-2607-2022

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 28.12.2022; одобрена после рецензирования 05.07.2023; принята к публикации 14.09.2023.

© Пулатова А. А., Димитриади С. Н., Кутилин Д. С., Зыкова Т. А., Франциянц Е. М., Шевякова Е. А., Хван В. К., Гончаров С. И., 2023

CLINICAL AND MORPHOLOGICAL FEATURES OF BLADDER CANCER COURSE IN HPV-INFECTED PATIENTS

A. A. Pulatova[✉], S. N. Dimitriadi, D. S. Kutilin, T. A. Zykova, E. M. Frantsiyants, E. A. Shevyakova, V. K. Hwan, S. I. Goncharov

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

✉ dr.pulatova05@gmail.com

ABSTRACT

Purpose of the study. To study the histological type, grade of tumor differentiation in patients with primary and recurrent clinically non-muscle-invasive bladder cancer (NMIBC) with highly carcinogenic human papillomavirus (HPV) infection.

Patients and methods. Formalin-fixed and paraffin-embedded bladder tumor tissue samples have been studied in 159 patients who underwent transurethral resection (TUR) of the bladder, for the presence of HPV DNA. To detect, quantify and differentiate DNA of HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 genotypes in the samples, the AmpliSense® HPV HRC genotype-titer-FL was used. The result of the study was taken into account when the amount of DNA of the β -globin gene was at least 1000 copies per reaction. In order to statistically analyze our data we used the Fisher exact test and also calculated the odds ratio (OR) and 95 % CI.

Results. According to the results of the study, out of 159 patients, high-risk HPV DNA was detected in the tumor tissue in 59 (37.1 %), of which HPV type 16 was found in 52 patients (89.4 %), HPV 18 was detected in 4 patients type (6.7 %) and type 35 in 3 (5.08 %). In a morphological study of the tissues of HPV-positive patients, the grade of tumor differentiation was G2 in 18 cases (30.5 %), G3 in 37 blocks, and G1 was detected only in 4 cases (6.7 %). In the presence of HPV, the chance of detecting a stage G3 tumor increases by 4.3 times. According to the received data, we can assume that there is a close relationship between detection in HPV patients of high-risk genotypes with moderately differentiated and low-differentiated forms of bladder cancer.

Conclusion. this study may indicate that HPV infection affects the grade of tumor differentiation, and this, in turn, may allow the use of the HPV test to assess the nature of the development of relapse and/or progression of the disease.

Keywords: bladder cancer, human papillomavirus, urothelial carcinoma, transurethral resection of the bladder

For citation: Pulatova A. A., Dimitriadi S. N., Kutilin D. S., Zykova T. A., Frantsiyants E. M., Shevyakova E. A., Hwan V. K., Goncharov S. I. Clinical and morphological features of bladder cancer course in HPV-infected patients. South Russian Journal of Cancer. 2023; 4(3):12-19. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-3-2>, <https://elibrary.ru/zeclwt>

For correspondence: Alina A. Pulatova – PhD student, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation.

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

E-mail: dr.pulatova05@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1220-3297>

SPIN: 3434-8788, AuthorID: 1171088

ResearcherID: XA-2607-2022

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 every participant 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 28.12.2022; approved after reviewing 05.07.2023; accepted for publication 14.09.2023.

ВВЕДЕНИЕ

Рак мочевого пузыря (РМП) является одной из самых распространенных патологий и занимает 7-е место среди мужчин и 17-е место у женщин в мире. В России среди мужского населения данная патология занимает 9-е место (4,6 %), и 16-е – среди женщин. В последние годы заболеваемость раком мочевого пузыря приобрела тенденцию к росту, однако, широкое использование визуальных методов диагностики позволяет диагностировать рак мочевого пузыря в 75 % случаев на I-II стадии заболевания. Тем не менее, данная патология представляет собой растущую проблему здравоохранения за счет частого рецидива и прогрессирования опухолевого процесса [1].

Уротелиальная карцинома, на долю которой приходится около 90 % всех случаев рака мочевого пузыря, на сегодняшний день является наиболее распространенным гистологическим типом во всем мире. Стратификация рака мочевого пузыря может быть бинарной, основанной на глубине проникновения, т. е. мышечно-инвазивный (МИРМП) и немышечно-инвазивный (НМИРМП) рак мочевого пузыря. НМИРМП составляет около 75 % впервые диагностированной уротелиально-клеточной карциномы мочевого пузыря [2]. За счет высокой митотической активности уротелиальной карциномы мочевого пузыря (МП), несмотря на проведение радикальной трансуретральной резекции опухоли мочевого пузыря и адъювантной внутрипузырной терапии, после выполнения трансуретральной резекции первичной опухоли при НМИРМП рецидив возникает в 30–60 % случаев [3].

К хорошо известным факторам риска рака мочевого пузыря относятся курение сигарет, несколько профессий, связанных с воздействием ароматических аминов (например, промышленное производство красителей), циклофосфамид и частое употребление анальгетика фенацетина. Возможными канцерогенами для рака мочевого пузыря являются паразитарные (шистосомоз) и бактериальные агенты (неспецифические инфекции мочевыводящих путей, гонорея), а также вирусные инфекции, такие как вирус папилломы человека (ВПЧ) [4; 5].

Одной из часто встречаемой инфекцией, которая передается половым путем, является ВПЧ. При обследовании пациентов в медицинских центрах Российской Федерации (РФ) за 2019 г. выявил дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) ВПЧ у 5015

(39 %) из 12946 обследованных. Также отмечено, что у 3509 больных имелся один вид ВПЧ, а у 1957 пациентов имелось несколько видов ВПЧ, среди 5015 человек у 8584 имелось ВПЧ разных типов [6]. Известно более 200 различных типов ВПЧ поражающих слизистые и кожные покровы человека, из них 14 типов относятся к группе высокого риска (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68 и 73), которые выявляются в 98 % случаев рака шейки матки, влагалища и вульвы. ВПЧ 6 и 11 – наиболее частая причина генитальных кондилом, тогда как ВПЧ 16 и 18 типов приводят к развитию интраэпителиальной неоплазии и цервикальному раку [7]. Более того, ВПЧ – хорошо известный мукозотропный канцероген и частая причина рака в аногенитальной области.

Репликация ДНК ВПЧ происходит только в клетках базального слоя, а в клетках других слоев эпидермиса вирусные частицы лишь персистируют, включая зоны перехода многослойного эпителия в цилиндрический. Этот процесс контролируют белки вируса, которые нарушают нормальный процесс дифференцировки клеток, за счет чего происходит гибель ядра клетки и, в следствии, деформация эпидермиса.

Особенностью ВПЧ является его способность долго персистировать в организме человека, поражая только базальный слой эпителия, при этом в кровь он не проникает. В клетке вирус пребывает в виде эписомы, за счет чего инфицирование зачастую протекает в доброкачественной форме [8].

При сравнении групп ВПЧ-положительных и ВПЧ-отрицательных больных обнаружена более высокая анаплазия клеток у людей с РМП, инфицированных ВПЧ, за счет чего первичный рак чаще является ВПЧ-положительным в отличие от рецидивного [9].

По данным исследования Кафедры патологии человека Медицинского университета Вакаяма (Япония) с помощью метода гибридизации мРНК *in situ* (RISH) RNAscore был проведен анализ мРНК ВПЧ Е6/Е7 высокого риска в срезах тканей РМП, залитых парафином. Уротелиальный рак (УР) низкой и высокой степени злокачественности был обнаружен в 61 (26,8 %) и 167 (73,2 %) случаях соответственно. Неинвазивный УР был наиболее частой опухолью (39,5 %, в том числе 37,3 % pTа и 2,2 % pTis), за ней следовали инвазивная pT1 (21,9 %), pT2 (18,0 %), pT3 (11,4 %), pT4 (3,1 %) и метастатическая опухоль (6,1 %) [3].

Несмотря на накопленные к настоящему времени экспериментальные и теоретические данные, многие онкогенные свойства ВПЧ, их вовлеченность в патологический процесс, их влияние на

процессы рецидивирования, прогрессирования рака мочевого пузыря остаются мало изученными.

Цель исследования: изучить гистологический тип, степень дифференцировки опухоли у больных первичным и рецидивирующим клинически мышечно-неинвазивным РМП при ВПЧ-инфекции высокого канцерогенного риска.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В нашем исследовании участвовали пациенты с установленным РМП ($n = 159$), перенесшие трансуретральную резекцию (ТУР) мочевого пузыря. Средний возраст больных составил 63,7 года $\pm$ 11,6 лет, среди них – 136 мужчин и 23 женщин. Все пациенты ($n = 159$), вошедшие в исследование, имели предоперационную клиническую стадию cT1N0M0. Критериями включения в исследовательскую работу являлись морфологически подтвержденный немышечно-инвазивный уротелиальный рак мочевого пузыря в клинической стадии cT1N0M0, возможность выполнения трансуретральную резекции, готовность пациента принять участие во всех этапах исследования и подписать информированное согласие, представленное в письменном виде. Нами также были выдвинуты критерии, согласно которым мы исключали больных из исследования такие как: наличие неуротелиального РМП; наличие терапевтических или психиатрических причин, затрудняющих участие в исследовании; беременность или период лактации; невозможность выполнить трансуретральную резекцию РМП. Трансуретральная резекция мочевого пузыря по поводу первичного РМП была проведена 97 пациентам, а 62 пациента прооперированы по поводу рецидивного РМП.

ВПЧ статус пациентов определяли с помощью ПЦР теста, наличие ДНК ВПЧ определяли в ткани опухоли, которую фиксировали в формалине и заливали парафином (FFPE ткани). Перед анализом парафин удаляли с помощью ксилола и этанола

96 %. Определяли ДНК ВПЧ высокого онкогенного риска (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 типов) методом ПЦР. Перекрестное связывание формалина с ДНК ликвидировали с помощью инкубирования при температуре 90 °C после расщепления с протеиназой. Результат исследования учитывали при количестве ДНК β -глобинового гена не менее 1000 копий на реакцию. Для проведения статистического анализа, полученных нами данных, мы использовали Критерий Хи-квадрат с поправкой Йейтса, точный критерий Фишера, а также рассчитывали отношение шансов (OR) с 95 % ДИ (CI). Для оценки силы связи между фактором риска и гистотипом, стадией или рецидивом использовали нормированное значение коэффициента Пирсона или критерий V Крамера.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

По данным проведенного нами исследования в образцах из 159 FFPE-блоков ДНК ВПЧ высокого онкогенного риска была обнаружена в ткани опухоли у 59 пациентов (37,1 %), из них ВПЧ 16 типа – у 52-ти больных (89,4 %), у четверых пациентов выявлен ВПЧ 18 типа (6,7 %) и 35 типа у троих (5,08 %). При морфологическом исследовании ткани опухоли ВПЧ-позитивных пациентов только у 43 (72,6 %) пациентов верифицирован типичный переходо-клеточный РМП, а у 15 (24,4 %) пациентов имелась плоскоклеточная дифференцировка и у 1 (1,7 %) пациента выявлен микропапиллярный РМП (табл. 1). Два последних гистологических варианта относятся к опухолям высокого злокачественного потенциала (high-grade), что является плохим прогностическим критерием. В то время как у ВПЧ-негативных больных у 96 (96 %) пациентов выявлен типичный переходо-клеточный РМП и у 4 (4 %) пациентов – плоскоклеточная дифференцировка.

Оценка значимости различий гистотипов в зависимости от воздействия фактора риска (ВПЧ) показала, что статистически значимо отсутствие ВПЧ инфекции приводит к развитию переходо-

Таблица 1. Гистотип уротелиального рака в зависимости от ВПЧ-статуса

	ВПЧ-позитивные больные РМП ($n = 59$)	ВПЧ-негативные больные РМП ($n = 100$)
Переходно-клеточный РМП ($n = 139$)	43 (72,9 %)	96\100 (96 %)
Плоскоклеточная дифференцировка РМП ($n = 19$)	15 (25,4 %)	4\100 (4 %)
Микропапиллярный РМП ($n = 1$)	1 (1,7 %)	Не обнаружен

клеточного РМП (Критерий Хи-квадрат с поправкой Йейтса = 15,994, $p < 0,001$; точный критерий Фишера (двусторонний) = 0,00004, $p < 0,05$). При этом сила связи между фактором риска и гистотипом была относительно сильной (нормированное значение коэффициента Пирсона = 0,451).

При гистологическом исследовании ткани опухоли ВПЧ-положительных пациентов по степени дифференцировки опухоли получены следующие результаты: G2 обнаружен в 18 случаях (30,5 %), G3 – в 37 блоках (62,7 %) и лишь в 4 случаях (6,7 %) выявлен G1 (табл. 2).

Проведенный статистический анализ показал, что наличие ВПЧ снижает шанс обнаружения опухоли стадии G1 (нижняя граница 95 % ДИ (CI) 0,140; верхняя граница 95 % ДИ (CI) 1,427) и G2 (нижняя граница 95 % ДИ (CI) 0,161; верхняя граница 95 % ДИ (CI) 0,629). При наличии ВПЧ повышается в 4,3 раза шанс обнаружения опухоли стадии G3 (нижняя граница 95 % ДИ (CI) 2,180; верхняя граница 95 % ДИ (CI) 8,578), по полученным данным мы можем предположить, что имеется тесная связь между выявлением у пациентов ВПЧ генотипов высокого риска с наличием умеренно дифференцированных и низкодифференцированных форм РМП.

Также нами было обнаружено, что ВПЧ статистически значимо не влияет на развитие стадии G1, но влияет на развитие стадии G2, а также стадии G3 (точный критерий Фишера (двусторонний) = 0,00003, $p < 0,05$).

В структуре больных рецидивирующим РМП ВПЧ-инфекция выявлялась чаще (в 46,8 % случаях), чем у пациентов с первичным РМП (в 30,9 % случаев) (табл. 3).

Согласно критериям оценки значимости различий исходов наше значение (4,07) превышает критическое, значит, на основании применения критерия χ^2 Пирсона нулевая гипотеза об отсутствии статистической взаимосвязи между изучаемым фактором риска и исходом может быть отвергнута при критическом уровне значимости 5 % ($p = 0,044$). При этом значение критерия χ^2 с поправкой Йейтса составляет 3,419, что меньше критического значения (3,841), а значит, мы не можем отвергнуть нулевую гипотезу об отсутствии статистической связи между фактором риска и исходом ($p = 0,065$). Также показано наличие слабой силы связи между развитием рецидива РМП и ВПЧ инфекцией (критерий V Крамера = 0,160).

Однако, анализ влияния ВПЧ-инфекции на рецидив заболевания при расчете отношения шансов с 95 % доверительным интервалом показал, что инфицирование ВПЧ повышает шансы развития рецидива в 2 раза (отношение шансов (OR) = 1,963, стандартная ошибка отношения шансов (S) = 0,336, нижняя граница 95 % ДИ (CI) = 1,015, верхняя граница 95 % ДИ (CI) = 3,793).

После патоморфологического исследования операционного материала миграция стадии с клинической дооперационной T1 до стадии T2 в послеопе-

Таблица 2. Количество ВПЧ-положительных и отрицательных морфологически подтвержденных случаев РМП разной степени дифференцировки опухоли

	ВПЧ-положительные больные РМП (n = 59)	ВПЧ-отрицательные больные РМП (n = 100)
G1	4 (6,8 %)	14 (14 %)
G2	18 (30,5 %)	58 (58 %)
G3	37 (62,7 %)	28 (28 %)

Таблица 3. ВПЧ-статус больных первичным и рецидивирующим РМП

	ВПЧ-положительные больные РМП (n = 59)	ВПЧ-отрицательные больные РМП (n = 100)
Первичный РМП (n = 97)	30 (30,9 %*)	67 (69,1 %*)
Рецидивирующий РМП (n = 62)	29 (46,8 %**)	33 (53,2 %**)
G3	37 (62,7 %)	28 (28 %)

Примечание: * – от всех больных первичным РМП, ** – от всех больных рецидивирующим РМП.

рационном материале у ВПЧ-позитивных больных РМП наблюдалась в 4,5 раза чаще (13,5 % случаев), чем у ВПЧ-негативных больных (3 % случаев) РМП (отношение шансов (OR) = 5,072, S = 0,699, нижняя граница 95 % ДИ (CI) = 1,289, верхняя граница 95 % ДИ (CI) = 19,951) (табл. 4).

Статистический анализ также показал наличие средней силы связи между развитием стадии T2 и наличием ВПЧ инфекции (Критерий V Крамера = 0,201). При этом стадия заболевания статистически значимо зависела от наличия ВПЧ (Хи-квадрат с поправкой Йейтса = 4,890, $p = 0,028$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Многие ученые считают, что ВПЧ 16-го типа часто в действительности вовлечен в процесс образования РМП, пораженные ВПЧ клетки опухоли способны влиять на микроокружение, вызывая рецидив опухоли из нормальных клеток уротелия, которые находились в непосредственной близости от зоны удаленной опухоли. Непосредственное влияние на микроокружение ВПЧ инфицированной опухоли при ее удалении может способствовать в дальнейшем прогностическим фактором [9].

Инфекция ВПЧ в большинстве случаев излечивается спонтанно. В остальных случаях, при персистенции вируса высокого риска риск злокачественного новообразования увеличивается.

Установка конкретного типа ВПЧ является необходимой, потому что разные типы этого вируса несут отличные друг от друга способности участия в канцерогенезе: одним из онкогенных типов ВПЧ является 16 и 18. Обнаружение нескольких типов вируса является негативным результатом и более тяжелого течения заболевания с высоким риском персистенции.

Учитывая противоречивый характер данных литературы о роли вирусов папилломы человека в патогенезе рака мочевого пузыря, мы стремились исследовать частоту их вовлечения в когорту больных с РМП различной степени инвазии и дифферен-

цировки. ДНК определялась в 159 парафиновых блоках на наличие вируса папилломы человека высокого (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 типов) высокого онкогенного риска определяли методом ПЦР в реальном времени. Из-за пределов аналитической чувствительности наши данные не могут исключить наличие крайне низких уровней ВПЧ16 или ВПЧ18 в опухолях мочевого пузыря. Другой фактор, предложенный для объяснения различий в распространенности опухолей мочевого пузыря, заключается в том, что вирус может инфицировать не все части опухолевой ткани одинаково. Таким образом, если образцы взяты не с зараженного участка, тест может дать ложноотрицательный результат. Аналогичным образом, загрязнение во время отбора проб может привести к ложноположительным результатам [5].

Из 59 ВПЧ положительных результатов при гистологическом исследовании у 15 (25,4 %) обнаружена плоскоклеточная дифференцировка опухоли. Этот тип дифференцировки нередко свидетельствует о плохой чувствительности к лучевой и к системной химиотерапии. Также ВПЧ-инфекция была выявлена у единственного пациента с микропапиллярным РМП. Одним из агрессивных вариантов морфологического компонента является микропапиллярный, за счет низкой степени дифференцировки клеток и инвазии в мышечный слой, пятилетняя выживаемость при этом варианте РМП составляет 51 %. Из 59 ВПЧ-позитивных пациентов у 37 (62,7 %) опухоль имела низкую степень дифференцировки, у 18 (30,5 %) умеренную и лишь у 4 (6,8 %) опухоль имела высокую степень дифференцировки.

Необходимо отметить что у всех пациентов с положительным ВПЧ тестом была обнаружена низкая вирусная нагрузка в среднем $2,1 \pm 0,8 \lg \text{ ВПЧ} \backslash 10^5 \times \beta$ -глобина, что мы объясняем тем, что все используемые на сегодняшний день ВПЧ тесты валидированы для эпителия шейки матки, и вирусная нагрузка оценивается в связи с тяжестью цервикальной интраэпителиальной неоплазии. Клинически значимой для рака шейки матки и цервикальной интраэпите-

Таблица 4. Послеоперационные стадии больных РМП после ТУР мочевого пузыря

	ВПЧ-позитивные больные РМП (n = 59)		ВПЧ-негативные больные РМП (n = 100)	
Стадия до операции / количество больных	T1 (n = 59)	T2 (n = 0)	T1 (n = 100)	T2 (n = 0)
Стадия после операции / количество больных	T1 (n = 51, 86,4 %)	T2 (n = 8, 13,5 %)	T1 (n = 97, 97 %)	T2 (n = 3, 3 %)

лиальной неоплазии является нагрузка от 3 до 5 $10^5 \times \beta$ -глобина, высокая вероятность развития рака шейки матки наблюдается при количестве более 5 $10^5 \times \beta$ -глобина. При этом оценка вирусной нагрузки при опухолях мочевого пузыря не определена.

Таким образом, мы обнаружили ДНК ВПЧ в ткани опухоли у больных, имеющих низкую или умеренную степень дифференцировки опухоли, что согласуется с данными литературы и может говорить о неблагоприятном течении заболевания, а также возможности использования данного теста прогнозирования рецидива после проведенного комплексного лечения.

В ранее опубликованных исследованиях была показана важная роль ВПЧ инфекции и развитии различных видов злокачественных новообразований, в том числе рака шейки матки, влагалища, вульвы, орофарингеальной зоны, аногенитального рака. ВПЧ 16-го типа представляет собой папиллома-вирус с наиболее высоким онкогенным риском и обнаруживается примерно в 55–60 % случаев заболевания цервикальным раком. ВПЧ 18-го типа – второй наиболее онкогенный папил-

лома-вирус, который обнаруживается примерно в 10–15 % случаев заболевания РШМ [10].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании у ВПЧ-положительных пациентов с клинически установленным диагнозом немусечно-инвазивный РМП миграция стадии до Т2 наблюдалась в 4 раза чаще чем у ВПЧ-негативных пациентов. При этом распространенность ВПЧ в опухолях низкой и умеренной степени злокачественности составила 93,2 %. Наши результаты указывают на связь между инфекцией ВПЧ и более низкой степенью дифференцировки и более высокой стадией опухолевого процесса, а также агрессивных форм уротелиального рака (плоскоклеточный, микропапиллярный варианты). Таким образом, данное исследование может свидетельствовать о том, что ВПЧ инфекция влияет на степень дифференцировки опухоли, а это, в свою очередь, может позволить использовать ВПЧ-тест для оценки характера развития рецидива и/или прогрессирования заболевания.

Список источников

1. Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, А. О. Шахзадовой. М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2021, 252 с. Доступно по: <https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2021/11/zis-2020-elektronnaya-versiya.pdf>, Дата обращения: 17.01.2022.
2. Shore ND, Palou Redorta J, Robert G, Hutson TE, Cesari R, Hariharan S, et al. Non-muscle-invasive bladder cancer: An overview of potential new treatment options. *Urol Oncol*. 2021 Oct;39(10):642–663. <https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2021.05.015>
3. Musangile FY, Matsuzaki I, Okodo M, Shirasaki A, Mikasa Y, Iwamoto R, et al. Detection of HPV infection in urothelial carcinoma using RNAscope: Clinicopathological characterization. *Cancer Med*. 2021 Aug;10(16):5534–5544. <https://doi.org/10.1002/cam4.4091>
4. Khatami A, Salavatiha Z, Razizadeh MH. Bladder cancer and human papillomavirus association: a systematic review and meta-analysis. *Infect Agent Cancer*. 2022 Jan 21;17(1):3. <https://doi.org/10.1186/s13027-022-00415-5>
5. Ohadian Moghadam S, Mansori K, Nowroozi MR, Afshar D, Abbasi B, Nowroozi A. Association of human papilloma virus (HPV) infection with oncological outcomes in urothelial bladder cancer. *Infect Agent Cancer*. 2020;15:52. <https://doi.org/10.1186/s13027-020-00318-3>
6. Файзулов Е. Б., Каира А. Н., Узбеков Т. Р., Поромов А. А., Волынская Е. А., Свитич О. А. и др. Распространенность папиллома вирусов человека высокого и низкого онкогенного риска на территории Российской Федерации. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2021;39(4):39–47. <https://doi.org/10.17116/molgen20213904139>
7. Hawkes N. HPV vaccines are effective and safe and work best in young women, review finds. *BMJ*. 2018 May 9;361:k2059. <https://doi.org/10.1136/bmj.k2059>
8. Хрянин А. А., Тапильская Н. И., Кнорринг Г. Ю. Современные представления о папилломавирусной инфекции: эпидемиология и тактика ведения пациентов с аногенитальными бородавками. Клиническая дерматология и венерология. 2020;19(5):719–728. <https://doi.org/10.17116/klinderma202019051719>

9. Лоран О. Б., Синякова Л. А., Гундорова Л. В., Косов В. А., Косова И. В., Погодина И. Е. и др. Вирус папилломы человека высокого онкогенного риска и рак мочевого пузыря. Урология. 2017;3:60–66.
<https://doi.org/10.18565/urol.2017.3.60-66>
10. Димитриади Т. А., Кит О. И., Бурцев Д. В. Скрининг рака шейки матки. Мировой опыт. Ситуация в России. Известия ВУЗОВ. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. 2017;(4-2(196)):26–32.
<https://doi.org/10.23683/0321-3005-2017-4-2-26-32>

Информация об авторах:

Пулатова Алина Асланхановна ✉ – аспирант, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1220-3297>, SPIN: 3434-8788, AuthorID: 1171088, ResearcherID: ХЯ-2607-2022

Димитриади Сергей Николаевич – д.м.н., старший научный сотрудник отделения онкоурологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2565-1518>, SPIN: 8337-8141, AuthorID: 692389, ResearcherID: P-9273-2017

Кутилин Денис Сергеевич – к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8942-3733>, SPIN: 8382-4460, AuthorID: 794680, Scopus Author ID: 55328886800

Зыкова Татьяна Алексеевна – к.м.н., заведующая лабораторией вирусологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5345-4872>, SPIN: 7054-0803, AuthorID: 735751, ResearcherID: U-3559-2019, Scopus Author ID: 57200075494,

Франциянц Елена Михайловна – д.б.н., профессор, заместитель генерального директора по науке, 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

Шевякова Елена Андреевна – биолог лаборатории вирусологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4232-6733>, SPIN: 9595-7616, AuthorID: 920220, ResearcherID: U-3551-2019

Хван Виктор Кидюевич – к.м.н., врач-уролог отделения онкоурологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0036-7190>, SPIN: 2761-6281, AuthorID: 1033644

Гончаров Сергей Иванович – врач-онколог, консультативно-диагностического отделения, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6802-4736>

Участие авторов:

Пулатова А. А. – сбор, анализ данных, написание текста;

Димитриади С. Н. – научное редактирование, обработка материала;

Кутилин Д. С. – анализ полученных результатов, статистическая обработка данных, редактирование текста рукописи;

Зыкова Т. А., Франциянц Е. М., Шевякова Е. А., Хван В. К., Гончаров С. И. – сбор и анализ данных, техническое редактирование, оформление библиографии.

ВОЗМОЖНОСТЬ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ОЧАГОВЫХ ОБРАЗОВАНИЙ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПУТЕМ АНАЛИЗА МИКРОРНК

М. С. Князева¹, Т. М. Шестопалова², Л. М. Забегина¹, А. В. Шалаев¹, А. К. Ратникова³,
В. А. Кащенко³, С. Л. Воробьев², А. В. Малек^{1✉}

1. НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

2. Национальный центр клинической морфологической диагностики, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

3. СЗОНКЦ им. Л. Г. Соколова ФМБА России, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

✉ anastasia@malek.com.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Поиск потенциально маркерных молекул микроРНК в материале узловых образований поджелудочной железы.

Материалы и методы. В исследование были включены образцы ткани очаговых образований поджелудочной железы с гистологическим заключением: хронический панкреатит ($n = 23$), интраэпителиальная неоплазия low grade /PanIN-1/2 ($n = 19$) и high grade степени /PanIN-3 ($n = 8$), инвазивная протоковая карцинома ($n = 26$). В рамках работы был проведен широкий профайлинг пулов образцов разных гистологических типов, выбор потенциально маркерных микроРНК, анализ экспрессии выбранных молекул микроРНК во всех образцах, включенных в исследование, поиск статистически значимых различий между группами образцов, апробация нового алгоритма интерпретации полученных результатов путем вычисления соотношений концентраций «реципрокных пар» микроРНК. Метод анализа: обратная транскрипция с последующей количественной ПЦР в режиме реального времени.

Результаты. Уровень экспрессии молекул miR-216a и miR-217 снижается в ряду: PanIN-1/2 > PanIN-3 > протоковая карцинома ПЖ. Также в клетках инвазивной протоковой карциномы поджелудочной железы повышена экспрессия miR-375 и снижена экспрессия miR-143. Высокая точность дифференциальной диагностики ($AUC > 0,95$) очагов хронического панкреатита и инвазивной протоковой карциномы ПЖ может быть обеспечена с помощью панели из четырех молекул miR-216a, miR-217, miR-1246 и let-7a.

Заключение. Оценка экспрессии молекул микроРНК в материале очаговых образований ПЖ с целью дифференциальной диагностики протоковой карциномы имеет диагностический потенциал, но метод требует валидации с использованием большей коллекции биологических образцов.

Ключевые слова: микроРНК, рак поджелудочной железы, протоковая неоплазия, хронический панкреатит, ОТ-ПЦР, диагностика

Для цитирования: Князева М. С., Шестопалова Т. М., Забегина Л. М., Шалаев А. В., Ратникова А. К., Кащенко В. А., Воробьев С. Л., Малек А. В. Возможность дифференциальной диагностики очаговых образований поджелудочной железы путем анализа микроРНК. Южно-Российский онкологический журнал. 2023; 4(3):20-35. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-3-3>, <https://elibrary.ru/gugsok>

Для корреспонденции: Малек Анастасия Валерьевна – д.м.н., заведующая лабораторией субклеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация.

Адрес: 197758, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, д. 68

E-mail: anastasia@malek.com.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5334-7292>

SPIN: 6445-3432, AuthorID: 129474

ResearcherID: R-8804-2016

Scopus Author ID: 35741075000

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 локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России (выписка 27/27 из протокола заседания № 1 от 28.01.2021 г.). Информированное согласие получено от всех участников исследования.

Финансирование: исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства Здравоохранения Российской Федерации «Разработка и клиническая апробация методов диагностики и прогнозирования эффекта терапии онкологических заболеваний на основе анализа микроРНК в биопсийном материале» (№ 121032300206-4) 2021–2023 гг. и в рамках проекта по соглашению № 075-15-2021-709, уникальный (идентификатор проекта RF-2296.61321X0037), финансируемого Министерством науки и высшего образования Российской Федерации.

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

Статья поступила в редакцию 24.01.2023; одобрена после рецензирования 05.07.2023; принята к публикации 14.09.2023.

© Князева М. С., Шестопалова Т. М., Забегина Л. М., Шалаев А. В., Ратникова А. К., Кащенко В. А., Воробьев С. Л., Малек А. В., 2023

PROSPECTS OF DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF FOCAL LESION OF PANCREAS BY THE MICRORNA ASSESSMENT

M. S. Kniazeva¹, T. M. Shestopalova², L. M. Zabegina¹, A. V. Shalaev¹, A. K. Ratnikova³, V. A. Kashchenko³, S. L. Vorobyev², A. V. Malek¹✉

1. N. N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, St. Petersburg, Russian Federation

2. National Center for Clinical Morphological Diagnostics, St. Petersburg, Russian Federation

3. North-Western District Scientific and Clinical Center named after L. G. Sokolov, St. Petersburg, Russian Federation

✉ anastasia@malek.com.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. Identification of potential miRNA markers in material of focal pancreatic lesions.

Materials and methods. Samples of focal pancreatic lesions after histological evaluation were enrolled in the study including chronic pancreatitis (ChP) ($n = 23$), low-grade pancreatic intraepithelial neoplasia /PanIN-1/2 ($n = 19$), high-grade pancreatic intraepithelial neoplasia /PanIN-3 ($n = 8$), and invasive pancreatic ductal adenocarcinoma PDAC ($n = 26$). Workflow of research included the profiling of cancer-associated miRNA in pooled samples, the selection of potential marker miRNAs, the assessment of selected miRNAs expression in total collection of specimens, the identification of differentially expressed miRNAs, and the approbation of new algorithm of data interpretation via ratio of "reciprocal miRNA pair". Consequent reactions of revers transcription and quantitative real-time PCR were used.

Results. The expression levels of miR-216a and miR-217 were decreased in the following order: PanIN-1/2 > PanIN-3 > PDAC. Moreover, miR-375 was up-regulated while miR-143 was down-regulated in the PDAC. Differential diagnostics of PDAC versus focal chronic pancreatitis might be performed with high accuracy ($AUC > 0.95$) by assessment panel of four molecules: miR-216a, miR-217, miR-1246 and Let-7a.

Conclusion. The assessment of microRNAs in pancreatic lesions is a promising approach for the differential diagnosis of PDAC, but this technology requires further validation with an increase in the number of samples.

Keywords: microRNA, pancreatic cancer, ductal neoplasia, chronic pancreatitis, RT-PCR, diagnostics

For citation: Kniazeva M. S., Shestopalova T. M., Zabegina L. M., Shalaev A. V., Ratnikova A. K., Kashchenko V. A., Vorobyev S. L., Malek A. V. Prospects of differential diagnosis of focal lesion of pancreas by the microRNA assessment. South Russian Journal of Cancer. 2023; 4(3):20-35. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-3-3>, <https://elibrary.ru/gugsok>

For correspondence: Anastasia V. Malek – Dr. Sci. (Med.), head of the laboratory of sub-cellular technologies, N. N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, St. Petersburg, Russian Federation.

Address: 68 Leningradskaya str., pos. Pesochnyi, St. Petersburg 197758, Russian Federation

E-mail: anastasia@malek.com.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5334-7292>

SPIN: 6445-3432, AuthorID: 129474

ResearcherID: R-8804-2016

Scopus Author ID: 35741075000

Compliance with ethical standards: the ethical principles presented by the World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, ed. 2013) were observed in the work. The study was approved by the local Ethics committee of the N. N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (extract 27/27 from the protocol of meeting No. 1 dated 01/28/2021). Informed consent was received from all participants of the study.

Funding: the study was supported in frame of the state task of the Russian Federation Ministry of Health "Development and clinical testing of methods for diagnosing and predicting the results of oncological diseases based on the analysis of microRNA in biopsy material" (No.121032300206-4) 2021–2023 and in frame of project RF-2296.61321X0037 (contract No. 075-15-2021-709) supported by Ministry of Science and high education of the Russian Federation.

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 24.01.2023; approved after reviewing 05.07.2023; accepted for publication 14.09.2023.

ВВЕДЕНИЕ

В структуре онкологической заболеваемости России на рак поджелудочной железы (РПЖ) приходится 3,4 % случаев, по частоте встречаемости эта нозология занимает 11 место. За период с 2010 по 2020 гг. наблюдался рост абсолютного числа впервые установленных диагнозов РПЖ с 7522 до 9275 случаев. В структуре онкологической смертности населения России доля диагнозов РПЖ составила 6,8 %, что соответствовало 5 позиции в списке наиболее «фатальных» диагнозов. Абсолютное число умерших от РПЖ за период 2010-2020 гг. возросло с 7783 до 9625 [1]. Кумулятивная пятилетняя выживаемость пациентов с РПЖ (М/Ж) составляет 22,2 / 33,3 % – при I стадии; 14,9 / 13,7 % – при II; 8,4 / 5,9 % – при III; 3,4 / 3,9 % – при IV стадии впервые поставленного диагноза [2]. Представленные статистические данные подтверждают известный факт низкой «курабельности» РПЖ и указывают на ухудшение эпидемиологической ситуации, наблюдаемое вопреки развитию диагностических и лечебных технологий.

В основе современных диагностических стандартов лежат методы физикального обследования, лабораторные и инструментальные методы исследования, такие как эндосонография (ЭУС), динамическая мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) и магнитно-резонансная томография (МРТ) брюшной полости [3]. Проведение биопсии с последующим морфологическим исследованием биопсийного материала рекомендовано всем пациентам с подозрением на РПЖ, при этом хирургическое вмешательство в ряде случаев может быть выполнено без морфологического подтверждения; назначение консервативного лечения требует обязательной морфологической верификации. Современные диагностические алгоритмы не решают в полной мере задачу своевременной диагностики РПЖ. Задача внедрения скрининга для определенных групп риска и повышения эффективности диагностики РПЖ представляется актуальной и предполагает различные подходы [4], включая методы предиктивной аналитики [5], инновационные технологии жидкостной биопсии [6; 7], высокотехнологичные методы визуализации патологии. Современные инструменты позволяют сочетать эндо-УЗИ с технологиями контрастирования [8], эластографией, тонкоигольной аспирационной биопсией [9]. Прецизионная тонкоигольная аспирационная биопсия под контролем эндосонографии (ЭУС-ТАБ) постепенно

входит в широкую клиническую практику, открывая перспективы, во-первых, расширения области применения методов морфологического анализа и, во-вторых, разработки новых технологий молекулярной диагностики биопсийного материала.

Основным преимуществом метода ЭУС-ТАБ с последующим изготовлением цитологических мазков и клеточного блока является относительно низкая инвазивность. Отечественными авторами была показана высокая чувствительность (93 %) и специфичность (100 %) комплексного морфологического исследования материала ЭУС-ТАБ при использовании технологии изготовления клеточных блоков, рассчитанных с учетом результатов последующей гистологической диагностики операционного материала [10]. Несмотря на очевидные преимущества, технология и результативность ЭУС-ТАБ сопровождается известными объективными и субъективными трудностями последующей цитологической диагностики. Тонкоигольная пункция позволяет получить микрофрагменты ткани образований железы и клеточную взвесь, результативность анализа которых определяется объемом и топикой аспирата. Сложности так же возникают в оценке пролиферативных процессов протокового эпителия, которые наблюдаются как в участках состоявшейся интраэпителиальной неоплазии (прежде всего PanIN3), так и в участках реактивной гиперплазии, ассоциированной с течением панкреатита; клеточные признаки при этом схожи, и дифференциальная диагностика часто затруднена в связи с малым количеством материала. В отличие от гистологического исследования операционного материала в материале ТАБ сложнее оценивать состояние базальной мембраны, структурность и нежелезистые паттерны органа. В этой связи дополнительные технологии молекулярной диагностики эпителиальных изменений могут повысить информативность комплексного морфологического диагноза.

МикроРНК – короткие регуляторные молекулы, контролирующие стабильность белок-кодирующих РНК и эффективность белкового синтеза. Трансформация эпителия протоков железы отражает многоступенчатый процесс развития протоковой аденокарциномы (доминирующей морфологической формы РПЖ); этот процесс сопровождается изменением профиля экспрессии (или состава) молекул микроРНК. Поэтому, анализ состава микроРНК в биопсийном материале представляется

перспективным методом диагностики очаговых поражений ПЖ, что подтверждается активностью исследований и количеством соответствующих публикаций. Поиск в базе научной литературы PubMed по ключевым словам «pancreatic cancer AND miRNA» выдает более 2,8 тысяч публикаций. Анализ имеющейся научной информации представлен в ряде обзорных статей [11-15], но в клинической практике пока нет примеров диагностических тест-систем на основе анализа микроРНК в материале узловых образований ПЖ.

Цель исследования: на основании анализа экспрессии опухоль-ассоциированных микроРНК выбрать потенциальные микроРНК-маркеры РПЖ, оценить показатели диагностической значимости метода и разработать алгоритм анализа данных ПЦР. Оценить возможность и целесообразность разработки и внедрения в клиническую практику метода дифференциальной диагностики патологических процессов ПЖ на основе анализа микроРНК в материале ЭУС-ТАБ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пациенты

План исследования был одобрен локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России, выписка 27/27 № 1 от 28.01.2021 г. Всеми пациентами было подписано информированное согласие на участие в исследовании. Перед включением в исследование биологические образцы и клинические данные были деперсонализированы.

В исследовании были включены пациенты, проходившие лечение в ФГБУ СЗОНКЦ им. Л. Г. Соколова и в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России. В соответствии со стандартами оказания медицинской помощи и клиническими рекомендациями (ID:355) всем пациентам были проведены панкреато-дуоденальная резекция или панкреатэктомиа. Материал образований ПЖ немедленно помещался в забуференный раствор 10 % формалина в соотношении 1:10 и после 24 часовой фиксации вырезался в кассеты для дальнейшей гистологической проводки и последующей световой микроскопии. На основе гистологического исследования окрашенных гематоксилином эозином препаратов в исследование был включен материал от 47 пациентов. В большинстве случаев анализ препаратов позволил выделить участки тка-

ни с разной морфологической структурой, поэтому для дальнейшего исследования было подготовлено 76 репрезентативных образцов.

Выделение РНК

Из образцов ткани были приготовлены срезы толщиной 3–4 мкм, депарафинизация срезов проводилась путем инкубации в 1 мл минерального масла (MP Biomedicals, США) при 65 °C – 15 мин, затем масло и парафин удалялись с помощью двух отмывок 96 % этанолом. Протеолиз был проведен в 100 мкл раствора протеиназы К, 2 мг/мл (активность: 30 ед. акт. /мг, Альгимед-Техно, Беларусь) при 60 °C – 1 час. Оставшуюся после протеолиза ткань осаждали путем центрифугирования (10 000x g, 4 °C – 10 мин), супернатант (~100 мкл) переносили в чистую пробирку, добавляли 200 мкл буфера (0,8М ацетат натрия; pH 4,0; 0,5 % октановой кислоты) и 100 мкл р-ра гуанидин изотиоцианата (3М), перемешивали, и инкубировали 5 минут при комнатной температуре. Образец переносили на спин-колонку, заполненную сорбентом (BioSilica, Россия), промывали дважды буфером для промывки № 1 (500 мкл; 0,5М гуанидин изотиоцианат; 10М трис-ацетат; pH 6,5; 50 % этанол; 1 % 2-меркаптоэтанол) и дважды буфером для промывки № 2 (500 мкл; 75 % этанол; 0,1М хлорид натрия, 10М трис-гидрохлорид; pH 7,5. РНК с поверхности сорбента элюировали с помощью 50 мкл буфера для элюции (10М NaHCO₃, 10 мМ ЭДТА). Концентрацию и качество выделенной РНК оценивали с помощью спектрофотометра NanoDrop 2000C (Thermo Scientific, США).

«Профайлинг» опухоль-ассоциированных микроРНК

С целью выбора потенциально маркерных молекул был проведен анализ экспрессии (профайлинг) 85 микроРНК, ассоциированных с процессом неопластической трансформации. Для этого были сформированы «пулы», представляющие собой смеси РНК образцов сходной морфологии: хронический панкреатит (ChP), интраэпителиальная неоплазия ПЖ (PanIN), инвазивная протоковая аденокарцинома ПЖ (PDAC). Анализ был проведен с помощью набора реагентов, производства компании Exiqon (miScript II RT Kit, miRCURY LNA miRNA Cancer-Focus PCR Panel), который предполагает последовательное проведение реакции полиаденилирования, обратной транскрипции всех молекул РНК с помощью поли-Т праймера, и реакции

количественной ПЦР в реальном времени для 85 молекул микроРНК. Интенсивность амплификации оценивалась с помощью ДНК-интерколирующего реагента SYBR-green. Все реакции были проведены в соответствии с протоколом производителя на амплификаторе CFX96 Touch™ (Bio-Rad, США).

Анализ экспрессии отдельных молекул микроРНК

Анализ экспрессии отдельных молекул микроРНК в материале каждого образца ($n = 76$) был проведен методом ОТ-ПЦР с помощью наборов производства компании «Альгимед-Техно» (Беларусь). Набор для анализа каждой микроРНК предполагал проведение двух-фланговой («two-tailed») микроРНК-специфичной реакции обратной транскрипции с использованием ОТ-праймера, «фланги» которого комплиментарно связывали 3'- и 5'-концы молекулы микроРНК, ориентируясь «навстречу» друг другу. Такая технология праймирования реакции обратной транскрипции обеспечивала ее высокую специфичность [16]. Затем проводилась реакция количественной ПЦР в реальном времени с использованием двух микроРНК-специфичных ПЦР праймеров. Интенсивность амплификации оценивали с помощью флуоресцентно-меченного ПЦР зонда. Все реакции ОТ-ПЦР проводились в соответствии с протоколами производителя, каждый анализ был сделан в трех повторах на амплификаторе CFX96 Touch™ (Bio-Rad, США).

Статистика

Нормализация данных «профайлинга» производилась согласно рекомендациям производителя: результаты анализа каждого образца были нормализованы относительно среднего арифметического значения пороговых циклов (Ct) трех референсных молекул. Перед сравнением результатов анализа отдельных образцов (пулов) была проведена нормализация относительно «меж-планшетных» калибраторов. Молекулы для последующего анализа выбирались путем простого сравнения нормализованных значений Ct.

Нормализация данных анализа отдельных молекул ($n = 24$) в индивидуальных образцах ($n = 76$) была проведена двумя альтернативными способами: относительно среднеарифметического для всех исследований ($24 \times 76 = 1842$) значения порогового цикла (total Ct) и относительно одной из 24 исследуемых молекул, для которой был харак-

терен наиболее стабильный уровень экспрессии в исследуемых образцах. Для выбора оптимального нормализатора, стабильность (или вариабельность) экспрессии анализируемых молекул оценивали с помощью алгоритма NormFinder [17]. Нормализация проводилась по стандартной методике подсчета (формула 1):

$$dCt = 2^{Ct(miRNA) - Ct(нормализатор)}$$

Оценку статистической значимости разницы уровней экспрессии отдельных микроРНК в сравниваемых группах проводили с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни (Mann-Whitney U-test). Прогностическую значимость каждой молекулы оценивали с помощью ROC-анализа (построения ROC-кривой и вычисления значения AUC). Также был произведен поиск оптимальных соотношений относительных концентраций так называемых «реципрокных пар» молекул микроРНК (молекул с разнонаправленными и ассоциированными с процессом неопластической трансформации изменениями уровней экспрессии). Для автоматизированного решения этой задачи был разработан программный алгоритм. Реципрокные пары формировались как все возможные комбинации 24 тестируемых микроРНК. Общее количество анализируемых пар было определено по формуле 2:

$$P_n^r = \frac{n!}{(n-r)! \times r!}$$

(где P – число уникальных комбинаций, n – общее число молекул (24), r – число молекул в каждой комбинации (2)). Затем для каждой пары был определен параметр соотношения эффективности амплификации (Ratio miR-1/miR-2) по формуле 3:

$$dCt = 2^{Ct(miR-1) - Ct(miR-2)}$$

Оценка диагностической значимости таких параметров производилась аналогично значимости отдельных молекул: с помощью ROC-анализа и вычисления значения AUC.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дизайн исследования, подготовка образцов

В практике анализа материала ЭУС-ТАБ очаговых образований ПЖ клиническое значение имеет дифференциальная диагностика между состоя-

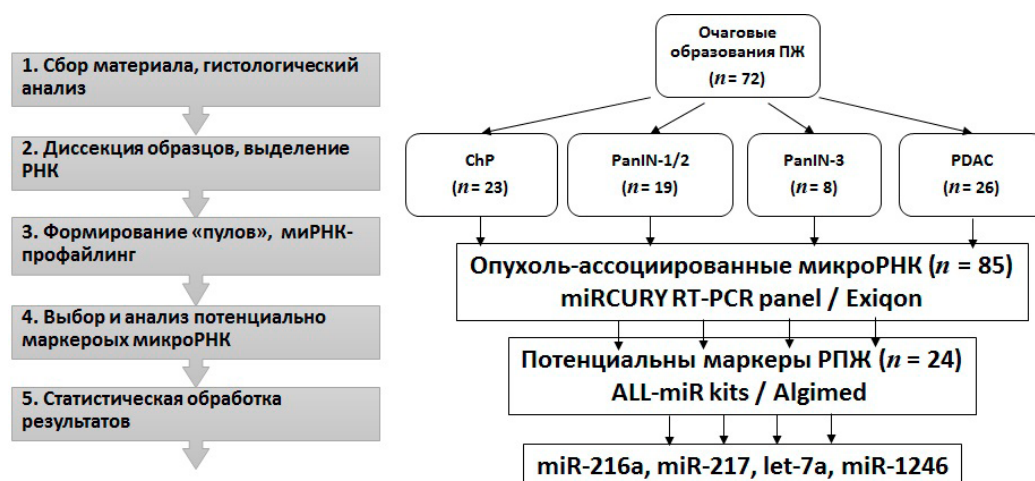


Рис. 1. Дизайн исследования.

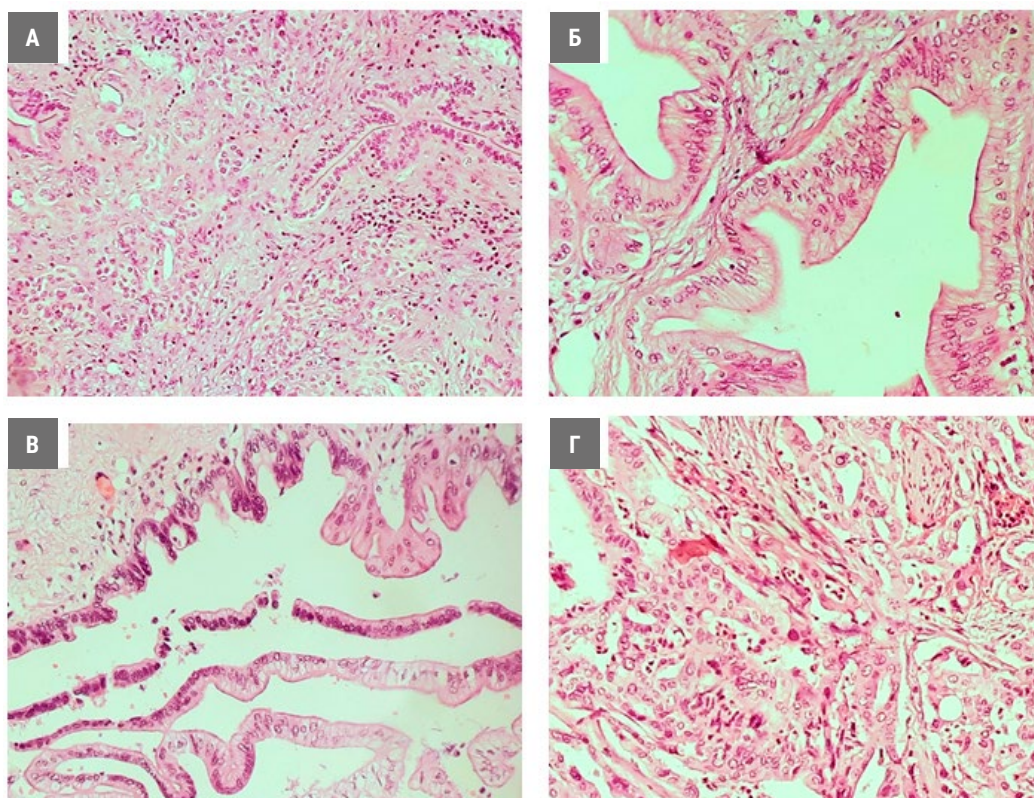


Рис. 2. Репрезентативные примеры участков патологических образований ПЖ.

Примечание: А – фиброзирующий хронический панкреатит (ChP): структура железы с выраженными структурными изменениями, потерей ацинарных клеток, выраженным фиброзом с воспалительной инфильтрацией, сдавленными деформированными протоками и участками пролиферации мелких протоков; Б – интраэпителиальное поражение (PanIN1/2): мелкие протоки поджелудочной железы с выстилкой из однослойного цилиндрического протокового эпителия с преимущественно базально расположенными ядрами (PanIN1), а также участками с признаками псевдостратификации – ядрами, располагающимися на разном уровне (PanIN2); В – интраэпителиальное поражение (PanIN3): крупный проток поджелудочной железы, выстланный преимущественно клетками с клеточной и ядерной атипией, высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением, гиперхромией ядер, неровными ядерными контурами, потерей полярности ядер, фигурами митозов, частью по типу foamy-gland pattern (пенистые клетки), частично со слизееобразованием и онкоцитарной дифференцировкой. Атипичные клетки располагаются в пределах базальной мембраны; Г – инвазивная протоковая аденокарцинома (PDAC) с распространенной периневральной инвазией. Окраска во всех случаях гематоксилином-эозином.

ниями, имеющими сходную клиническую и сонографическую картины: хронический панкреатит (Chronic pancreatitis, ChP), интраэпителиальные поражения разной степени злокачественности (Pancreatic intraepithelial neoplasia, PanIN), и инвазивная протоковая аденокарцинома (pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC). С учетом задачи поиска

маркеров дифференциальной диагностики перечисленных состояний, план исследования предполагал последовательное выполнение следующих этапов: 1) гистологический анализ патологии ПЖ (операционный материал), 2) выбор и микродиссекция участков с соответствующей морфологической картиной, выделение РНК, 3) формирование «пу-

Таблица 1. «Профиль» экспрессии 18 потенциально маркерных молекул микроРНК в неизменной ткани ПЖ и клетках очаговых образований различной морфологии

№	МикроРНК	Относительный уровень экспрессии в патологических образцах (miRNA Cancer-Focus PCR Panel)			Относительный уровень экспрессии в клетках неизменной ткани поджелудочной железы (miRNATissueAtlas2)
		ChP	PanIN1/2/3	PDAC	
1	hsa-let-7a-5p	9,13	14,41	7,80	512,4
2	hsa-miR-10b-5p	0,50	0,40	0,60	111,5
3	hsa-miR-15a-5p	0,80	1,29	0,82	143,6
4	hsa-miR-23a-3p	6,96	4,43	5,21	462,7
5	hsa-miR-24-3p	10,03	7,67	8,31	177,2
6	hsa-miR-26b-5p	2,22	2,73	1,70	415,5
7	hsa-miR-27a-3p	10,25	9,31	7,08	229,1
8	hsa-miR-29c-3p	2,21	5,91	2,86	1298,3
9	hsa-miR-125b-5p	32,56	17,24	17,46	426,3
10	hsa-miR-126-3p	13,02	7,50	5,39	532,6
11	hsa-miR-141-3p	2,99	10,13	3,02	82
12	hsa-miR-143-3p	3,20	3,92	6,22	94,6
13	hsa-miR-145-5p	23,79	12,19	23,60	509,2
14	hsa-miR-146b-5p	0,51	0,80	0,61	82,1
15	hsa-miR-155-5p	0,32	0,39	0,28	74,7
16	hsa-miR-192-5p	1,38	4,25	4,08	24,6
17	hsa-miR-200a-3p	0,38	1,01	0,90	22,8
18	hsa-miR-200c-3p	7,56	10,96	5,16	17,4

Таблица 2. Перечень молекул дополнительно включенных в исследование

№	МикроРНК	Относительный уровень экспрессии в клетках неизменной ткани поджелудочной железы (miRNATissueAtlas2)	Источник литературы
1	hsa-miR-375-3p	20,4	[19]
2	hsa-miR-451a-5p	4650,4	[13]
3	hsa-miR-1246	3416,7	[20]
4	hsa-miR-1290	886,3	[21]
5	hsa-miR-216a-5p	42,3	[22]
6	hsa-miR-217-5p	20,1	[23]

лов» РНК из образцов с характерной морфологией и анализ 85 опухоль-ассоциированных микроРНК («профайлинг»), 4) выбор и анализ потенциально маркерных молекул микроРНК, 5) статистическая обработка результатов. Дизайн исследования схематично представлен на рисунке 1.

Препараты ChP при отборе на площади всего среза не содержали ткани опухоли, морфологическая картина варьировала от слабой воспалительной инфильтрации с умеренным фиброзом (как внутридольковым, так и перидуктальным) до выраженной воспалительной реакции с участками фиброзирующего Ch P. В группу PanIN1/2 были включены образцы внутрипротоковых папиллярных муцинозных неоплазий (Intraductal papillary mucinous neoplasm, IPMN) и муцинозных кистозных опухолей (Mucinous cystic neoplasm, MCN) с низкой степенью дисплазии. Препараты этой группы могли включать в себя небольшие фрагменты неизменной ткани ПЖ. Группа PanIN3 включала образцы дисплазии тяжелой степени, включая случаи IPMN и MCN, исключалось наличие участков PDAC. Группа PDAC была представлена типичными гистотипами и двумя случаями муцинозной цистаденокарциномы с умеренной или низкой степенью дифференцировки. Данная категория содержала в срезах небольшие участки сочетания с PanIN3.

В ходе световой микроскопии были выделены зоны с соответствующей морфологической картиной, проведена микродиссекция выбранных участков ткани для последующего выделения РНК. В ряде случаев из одного образца был получен

материал для разных групп. В итоге в исследование были включены следующие образцы: ChP ($n = 23$), PanIN1/2 ($n = 19$), PanIN3 ($n = 8$), PDAC ($n = 26$). Репрезентативные примеры участков с характерной морфологической картиной, выбранных для исследования, представлены на рисунке 2.

Выбор потенциально «маркерных» микроРНК

Тотальная РНК была выделена из всех образцов. Наблюдался большой разброс концентраций РНК (0,5-350 нг/мкл), что могло быть следствием неоднородности ткани и/или разной степени сохранности внутриклеточных РНК в разных участках. РНК, выделенные из гистологически сходных образцов, были объединены в равных массовых долях в так называемые «пулы» для предварительного анализа профиля экспрессии потенциально маркерных молекул. Такой подход позволяет провести сравнительный анализ групп образцов максимально экономично, но без возможности оценки статистической значимости полученных результатов. Проведенный анализ позволил оценить разницу между тремя состояниями: хроническим панкреатитом (ChP), интраэпителиальной неоплазией любой степени (PanIN1/2/3) и инвазивной протоковой аденокарциномой ПЖ (PDAC). Молекулы микроРНК с относительно высоким и существенно отличающимся уровнем экспрессии в трех группах были выбраны для последующего анализа. Дополнительным критерием отбора служила информация о детектируемой ранее экспрессии

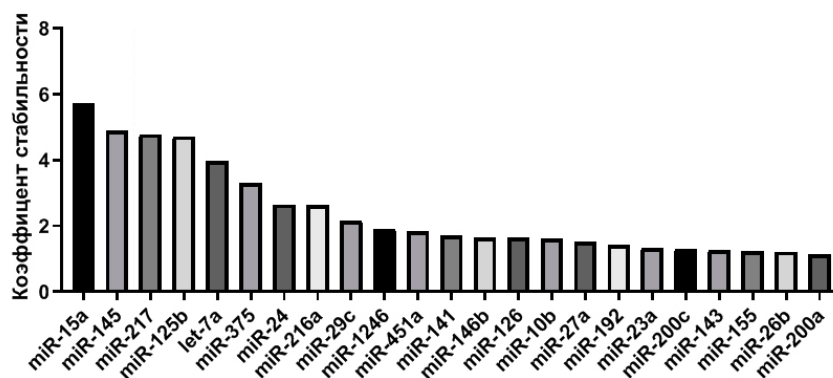


Рис. 3. Результаты оценки экспрессионной вариабельности молекул микроРНК (n.23) в анализируемых образцах (n.76) с помощью алгоритма NormFinder.

Примечание: алгоритм NormFinder [17] позволяет ранжировать анализируемые молекулы в соответствии с уровнем стабильности / вариабельности их экспрессии в группе исследуемых образцов. Коэффициент стабильности = 1 соответствует молекуле, уровень экспрессии которой идентичен во всех образцах, такие молекулы могут быть использованы в качестве нормализаторов. В рамках проведенного эксперимента максимально стабильный уровень экспрессии был показан для miR-200a.

этих молекул в клетках ПЖ, представленная в базе данных «miRNATissueAtlas2» [18]. Таким образом, были выбраны 18 молекул. В таблице 1 представлены нормализованные показатели экспрессии выбранных молекул в клетках трех вариантов патологических очаговых образований: ChP, panIN1/2/3, PDAC и данные, относительно экспрессии этих молекул в клетках неизменной ткани поджелудочной железы (по данным miRNATissueAtlas2). Следует отметить, что сравнение представленных результатов анализа групп патологических и нормальных образцов не правомерно, т.к. это результаты разных исследований, выполненных разными методами. Но сравнительная оценка разных молекул в рамках определенного исследования может быть информативной. В целом, представленные результаты позволяют утверждать, что выбранные 18 молекул действительно активно экспрессируются в клетках ПЖ, а формирование очаговых образований путем хронической воспалительной реакции или малигнизации, вероятно, ассоциировано с изменением их экспрессионной и функциональной активности.

Анализ проведенных ранее исследований показал, что ряд молекул микроРНК, не включенных в miRCURY LNA miRNA Cancer-Focus PCR Panel, играет важную роль в развитии РПЖ и может иметь диагностический потенциал; они ($n = 6$) были также включены в исследование. Уровень экспрессии этих молекул в неизменной ткани ПЖ по данным «miRNATissueAtlas2» и ссылки на соответствующие исследования представлены в таблице 2. Таким образом, была сформирована «панель» из 24 потенциально маркерных молекул микроРНК.

Анализ потенциально маркерных молекул

Уровень экспрессии каждой из выбранных 24 молекул был оценен с помощью реакции микроРНК-специфичной двух-фланговой ОТ и последующей ПЦР в каждом образце, включенном в исследование. Специфичность ОТ обеспечивалась ОТ-праймером, имеющим два фланга для связывания с молекулой микроРНК. В результате реакции ОТ происходил синтез молекулы комплементарной ДНК, оба фланга которой имели микроРНК-специфичные участки для связывания с ПЦР-праймерами. Возможность

Таблица 3. Результаты сравнительного анализа экспрессии потенциально маркерных микроРНК в образцах очаговых образований РП разной морфологии

МикроРНК	ChP ($n = 23$)	PanIN1/2 ($n = 19$)	PanIN3 ($n = 8$)	PDAC ($n = 26$)	Kruskal-Wallis test
hsa-miR-143-3p	0,1	0,16	0,09	0,04	0,0007 ***
hsa-miR-217-5p	0,87	0,42	0,28	0,07	0,001 ***
hsa-miR-216a-5p	1,48	0,84	0,83	0,38	0,0032 **
hsa-miR-375-3p	0,2	0,32	0,13	0,48	0,0137 *
hsa-miR-200c-3p	0,18	0,23	0,24	0,10	0,0259 *
hsa-miR-1246	0,07	0,09	0,09	0,03	0,0336 *
hsa-miR-155-5p	0,4	0,38	0,31	0,22	0,1098
hsa-miR-146b-5p	1,4	2,56	2,5	0,84	0,1131
hsa-miR-26b-5p	0,42	0,23	0,58	0,22	0,1485
hsa-miR-192-5p	0,5	0,38	0,19	0,29	0,1538
hsa-miR-125b-5p	0,09	0,17	0,34	0,20	0,2127
hsa-miR-451a-5p	0,11	0,12	0,04	0,52	0,2323
hsa-miR-29c-3p	0,84	5,97	17,65	0,62	0,2599
hsa-miR-24-3p	0,09	0,1	0,12	0,09	0,3167
hsa-let-7a-5p	0,34	0,31	0,27	0,24	0,3674
hsa-miR-126-3p	0,96	1,05	0,66	1,00	0,4304
hsa-miR-10b-5p	51,04	70,6	50,47	74,01	0,4911

оценки уровней экспрессии микроРНК и высокая специфичность данного подхода были показаны ранее [24]. По результатам проведенного анализа молекула miR-1290 была исключена из последующих этапов исследования, так как уровень ее экспрессии в большинстве образцов оказался ниже предела чувствительности используемого метода.

С целью определения оптимального нормализатора данных ОТ-ПЦР, была проведена оценка вариабельности экспрессии каждой из 23 молекул с помощью алгоритма NormFinder, результаты представлены на рисунке 3.

Наиболее стабильный уровень экспрессии (stability value $\rightarrow$ 1) был показан для микроРНК-200a, которая в дальнейшем была использована в качестве нормализатора. Альтернативный метод нор-

мализации предполагает вычисление среднего арифметического значения пороговых циклов (total Ct), полученных в рамках исследования (76 образцов $\times$ 24 молекулы = 1824), и нормализации всех результатов относительно этого значения [25]. Результаты ОТ-ПЦР были нормализованы двумя методами: относительно значения total Ct и относительно Ct (миР-200a) для каждого индивидуального образца. Нормализованные значения были объединены в группы (ChP, PanIN1/2, PanIN3, PDAC), что позволило оценить разницу экспрессии отдельных молекул в исследуемых группах. Для ряда молекул наблюдались противоречия между результатами, полученными с помощью разных методов нормализации. Такие молекулы были исключены из последующего анализа. В расчет принимались только

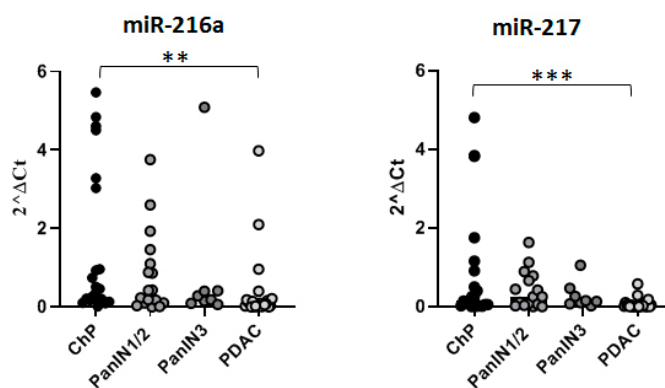


Рис. 4. Сравнительный анализ уровня экспрессии miR-216a и miR-217 в ткани образцов очаговых образований поджелудочной железы различной гистологической структуры.
 Примечание: группы образцов хронического панкреатита / ChP ($n = 23$), внутри-эпителиальная неоплазия легкой / PanIN-1/2 ($n = 19$), и тяжелой степени / PanIN-3 ($n = 8$), протоковая карцинома / PDAC ($n = 26$). Оценка статистической значимости наблюдаемой разницы проведена путем расчета критерия Краскела-Уоллиса (** $p < 0,005$; *** $p < 0,0005$)

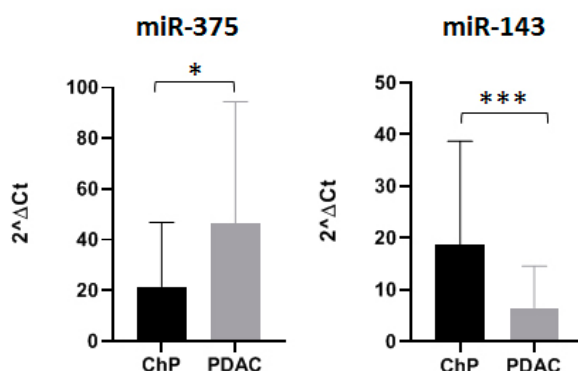


Рис. 5. Сравнительный анализ уровня экспрессии miR-375 и miR-143 в ткани очагов хронического панкреатита и РПЖ.
 Примечание: график представляет средние арифметические значения для группы образцов хронического панкреатита / ChP ($n = 23$) и протоковой карциномы / PDAC ($n = 26$). Оценка статистической значимости наблюдаемой разницы проведена путем расчета критерия Манн-Уитней (* $p < 0,05$; *** $p < 0,0005$)

те результаты, которые были сходными при различных методиках нормализации, т.е. минимально зависели от них; таких молекул было 17 из 23.

Следующим этапом была проведена оценка статистической значимости разницы уровней экспрессии отдельных микроРНК между клиническими группами. Результаты представлены в таблице 3.

Для ряда молекул наблюдалась статистически значимое изменение экспрессионной активности в ряду PanIN-1/2 – PanIN-3 – PDAC. Например, повышение степени тяжести дисплазии протокового эпителия сопровождалось снижением уровня экспрессии miR-216a и miR-217 (рис. 4).

Полученные результаты позволяют предполагать, что низкая экспрессия этих молекул в мате-

риале ЭУС-ТАБ очагового поражения ПЖ может быть маркером его злокачественной природы. Статистически значимая разница между исследуемыми группами была получена еще для ряда молекул: miR-143, miR-375, miR-200c и miR-1246.

Интересно, что при сравнении групп образцов ChP и PDAC, без учета данных, полученных для образцов интраэпителиальных поражения разной степени злокачественности (PanIN1/2/3), наблюдалось повышение уровня экспрессии miR-375 и снижение уровня экспрессии miR-143, ассоциированные с процессом хронического воспаления (рис. 5).

С целью оценки перспектив использования анализа отдельных потенциально маркерных микроРНК именно в рамках данной диагностиче-

Таблица 4. Показатели эффективности дифференциальной диагностики хронического панкреатита и РПЖ путем анализа отдельных молекул микроРНК

МикроРНК	AUC	Чувс.	Спец.	ППЗ, %	НПЗ, %	Точность, %
hsa-miR-143-3p	0,75	70,59	82,61	79,17	75,00	77,50
hsa-miR-216a-5p	0,81	76,19	78,26	78,26	76,19	77,27
hsa-miR-217-5p	0,81	76,19	78,26	78,26	76,19	77,27
hsa-miR-375-3p	0,78	71,43	71,43	71,43	71,43	71,43

Таблица 5. Показатели эффективности дифференциальной диагностики хронического панкреатита (ChP) и РПЖ (PDAC) на основе оценки концентрационных соотношений «реципрокных пар» микроРНК

Пара микроРНК	AUC	Чувс.	Спец.	ППЗ, %	НПЗ, %	Точность, %
miR-1246/miR-217	0,95	95,24	82,61	95,00	83,33	88,64
miR-1246/miR-216a	0,95	90,00	91,30	91,30	90,00	90,70
miR-1246/miR-375	0,81	85,00	73,91	85,00	73,91	79,07
miR-143/miR-216a	0,83	81,25	82,61	86,36	76,47	82,05
let-7a/miR-216a	0,97	94,44	94,74	94,74	94,44	94,59
miR-155/miR-217	0,93	88,89	90,48	90,48	88,89	89,74
let-7a/miR-217	0,96	88,24	100,00	90,48	100,00	94,44
miR-155/miR-216a	0,91	83,33	90,48	86,36	88,24	87,18
miR-192/miR-216a	0,93	83,33	100,00	87,50	100,00	92,31
miR-192/miR-217	0,91	80,95	95,24	83,33	94,44	88,10
miR-143/miR-217	0,85	68,75	95,65	81,48	91,67	84,62
miR-200c/miR-216a	0,88	80,95	78,26	81,82	77,27	79,55
miR-200c/miR-217	0,88	75,00	78,26	78,26	75,00	76,74
miR-451a/miR-216a	0,81	80,00	78,26	81,82	76,19	79,07
miR-451a/miR-217	0,82	85,71	73,91	85,00	75,00	79,55

ской дилеммы, для молекул с максимальной разницей уровня экспрессии между сравниваемыми группами (miR-143, miR-217, miR-216a, miR-375) был проведен ROC анализ и подсчет стандартных параметров диагностической значимости. Результаты, представленные в таблице 4 и на рисунке 6, указывают на высокий диагностический потенциал этих маркеров.

Алгоритм дифференциальной диагностики

Нормализация результатов ОТ-ПЦР анализа микроРНК и клинически применимая интерпретация результатов такого анализа является нетривиальной задачей. Одним из подходов к ее решению представляется поиск молекул с реципрокным (разнонаправленным) характером опухоль-ассоциированных экспрессионных изменений и оценка соотношения концентраций таких молекул. Эффективность этого подхода была доказана ранее: значения таких экспрессионных соотношений могут иметь более высокий диагностический потенциал, чем показатели оценки экспрессии отдельных молекул [26].

В рамках данной работы был применен разработанный ранее расчетный алгоритм для поиска перспективных «реципрокных пар» микроРНК. Так, этот алгоритм предполагал подбор всех возможных пар молекул микроРНК (по формуле 2), расчет их концентрационных соотношений (по формуле 3) и ROC анализ полученных параметров (miR-1/miR-2

Ratio) в качестве маркеров дифференциальной диагностики ChP vs. PDAC. Таким образом для 276 пар молекул были рассчитаны показатели диагностической значимости, включая AUC, чувствительность, специфичность, позитивное предиктивное значение (positive predictive value, PPV), негативное предиктивное значение (negative predictive value, NPV) и диагностическая точность (accuracy). Представленные в таблице 5 результаты демонстрируют высокий диагностический потенциал многих «реципрокных пар» микроРНК (AUC > 0,8).

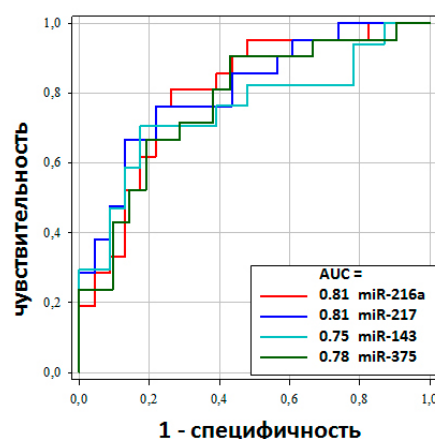


Рис. 6. Оценка диагностической ценности анализа отдельных молекул микроРНК в рамках дифференциальной диагностики хронического панкреатита и РПЖ.
 Примечание: представлены результаты ROC (Receiver operation curve) анализа и значения площади под кривыми AUC (area under curve) для четырех молекул.

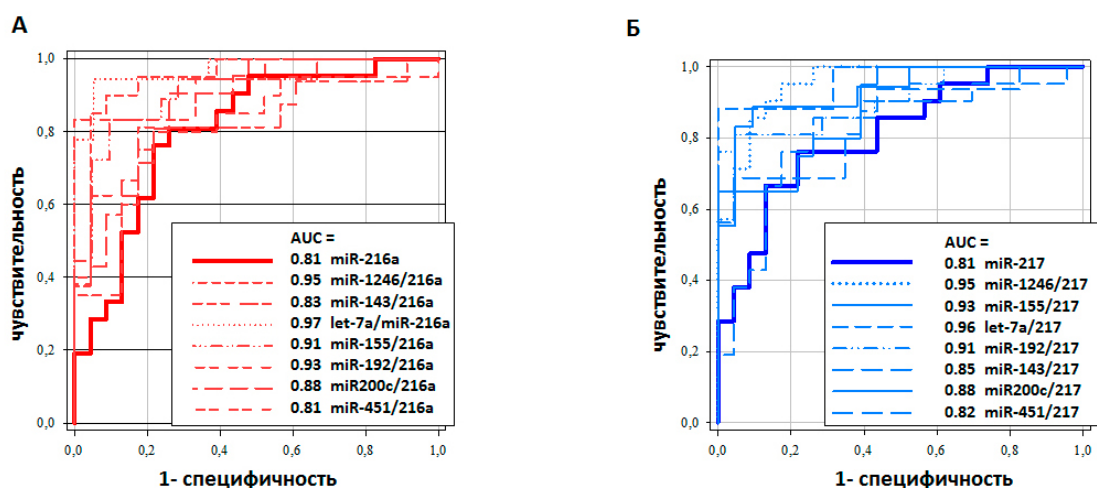


Рис. 7. Оценка диагностической ценности анализа «реципрокных пар» молекул микроРНК в рамках дифференциальной диагностики хронического панкреатита и РПЖ.
 Примечание: А – результаты оценки диагностического потенциала miR-216a и нескольких «реципрокных пар», формируемых этой молекулой. Б – результаты оценки диагностического потенциала miR-217 и нескольких «реципрокных пар», формируемых этой молекулой. Представлены результаты ROC (Receiver operation curve) анализа и значения площади под кривыми AUC (area under curve).

Из данных таблицы видно, что в состав «реципрокных пар» входят молекулы, имеющие относительно высокий диагностический потенциал в качестве индивидуальных маркеров. Но расчет соотношения концентрации этих молекул относительно концентраций молекул с «реципрокным» характером РПЖ-ассоциированных экспрессионных изменений, позволяет существенно повысить показатели диагностической значимости. На рисунке 7 представлены ROC-кривые, подтверждающие этот вывод для «реципрокных пар», которые формируют молекулы miR-216a и miR-217.

Так, значение AUC для miR-216a равно 0,81, а для соотношений концентрации этой молекулы и miR-192, miR-1246 или let-7a значения AUC повышаются до 0,93, 0,95 и 0,97 соответственно. Аналогично, значение AUC для miR-217 равно 0,81, а для соотношений концентрации этой молекулы и miR-155, miR-1246 или let-7a значения AUC повышаются до 0,93, 0,95 и 0,96, соответственно. В целом, анализ «панели» из четырех молекул, miR-216a, miR-217, miR-1246 или let-7a, обеспечивает возможность расчета четырех параметров для дифференциальной диагностики хронического панкреатита и РПЖ, причем значение AUC этих параметров находится в диапазоне 0,95–0,97, чувствительность – 0,88–0,95, специфичность – 0,82–1.

ОБСУЖДЕНИЕ

В статье представлены результаты пилотного исследования, проведенного с целью оценки перспектив разработки метода дифференциальной диагностики очаговой патологии ПЖ на основе анализа микроРНК в материале биоптатов. В работе были использованы материалы послеоперационного гистологического исследования. Авторы предполагают, что полученные результаты послужат основой для создания инновационного метода молекулярного анализа материала ЭУС-ТАБ, который сможет дополнить и повысить диагностический потенциал стандартного морфологического исследования.

В ходе исследования был проведен анализ экспрессии 85 молекул микроРНК, функция которых ассоциирована с канцерогенезом, в материале 76 образцов, полученных от 47 прооперированных пациентов. Гистологическое исследование позволило сформировать четыре группы образцов, соответствующие диагнозам хронического

панкреатита (ChP), панкреатической интраэпителиальной неоплазии легкой степени (PanIN-1/2), внутри-эпителиальной неоплазии тяжелой степени (PanIN-3) и наиболее распространенной формы РПЖ (инвазивной протоковой аденокарциномы, PDAC). Анализ экспрессии микроРНК позволил выявить статистически значимые отличия уровней экспрессии в клинических группах для ряда молекул: miR-143, -217, -216a, -375, -200c, -1246. Полученные результаты имеют как фундаментальное, так и прикладное значение.

Участие miR-217 [23], -216a [22], -375 [19], -1246 [20] в процессе злокачественной трансформации протокового эпителия поджелудочной железы было показано ранее; эти данные были подтверждены результатами нашей работы. Угнетение экспрессии miR-143 в клетках РПЖ является интересной находкой, которая также находит подтверждение в научной литературе. Так, сравнительный анализ неизменной ткани железы и РПЖ, проведенный китайскими исследователями на материале 37 пациентов, показал аналогичные нашим результаты [27]. Кроме того, эктопическая экспрессия этой молекулы в различных линиях клеток РПЖ (MIA PaCa-2 and PANC-1) имела терапевтический эффект, угнетая пролиферацию и метастатический потенциал клеток [27; 28]. В экспериментах *in vitro* показано, что снижение концентрации / функциональной активности miR-143 в клетках РПЖ ассоциировано с активацией экспрессии ряда онкогенов (ARHGEF1 (GEF1), ARHGEF2 (GEF2), K-RAS), что подтверждает терапевтический потенциал синтетических аналогов этой молекулы.

В рамках нашего исследования статистически значимых изменений экспрессии miR-1246 обнаружено не было, но соотношение концентрации этой молекулы и концентрации miR-216a или miR-217 показало высокий диагностический потенциал. Полученные результаты указывают на возможность активации экспрессии этой молекулы в клетках РПЖ, причем этот процесс ассоциирован с угнетением экспрессии miR-216a или miR-217. Имеет ли эта ассоциация случайный характер или она биологически обоснована пока неизвестно. Анализ научной литературы не формирует однозначного представления об участии miR-1246 в развитии РПЖ. В ряде публикаций показан диагностический потенциал циркулирующий в плазме miR-1246 [6; 29], но какова связь между концентрацией этой молекулы в плазме и ее ролью в клетках РПЖ не ясно. Анализ биогенеза этой молекулы в опухолевых клет-

ках был недавно проведен группой американских исследователей [30]. Было показано, что miR-1246 является продуктом деградации малой ядерной РНК (RNU2-1), которая функционирует в составе ядерного комплекса сплайсосомы. В таком случае miR-1246 является продуктом неканонического пути синтеза микроРНК, а повышение внутриклеточной концентрации и/или секреции этой молекулы клетками РПЖ может не быть связано с ее ролью в процессе пост-транскрипционной регуляции экспрессии генов-мишеней. В рамках нашего исследования было показано, что экспрессия молекулы let-7a имеет «реципрокный» характер относительно экспрессии miR-216a и miR-217. Биологический смысл этого феномена также пока неизвестен, но он может быть использован в рамках разработки алгоритма клинически приемлемой интерпретации результатов ОТ-ПЦР. В целом, полученные результаты дополняют имеющиеся представления о роли отдельных молекул микроРНК в развитии РПЖ.

Более существенным представляется практическое значение полученных результатов, которые продемонстрировали, во-первых, техническую возможность выделения и анализа микроРНК в биоптатах образований ПЖ с помощью отечественных реагентов, и, во-вторых, диагностический потенциал такого анализа. В плане разработки технологии, пригодной для клинического применения, необходимо приложить дополнительные усилия для (1) разработки метода консервации материала ЭУС-ТАБ и последующего выделения малых РНК и (2) определения оптимального (минимального) набора маркерных микроРНК для включения в диагностическую «панель» для дифференциальной диагностики очагового поражения поджелудочной железы. С целью обеспечения высоких и, главное, стабильных показателей диагностической значимости тест-системы важным аспектом является разработка алгоритма

интерпретации данных ОТ-ПЦР. Решение аналогичной задачи было реализовано нами в рамках создания тест-системы для оценки степени тяжести дисплазии цервикального эпителия [31]. Так, оптимальной представляется следующий аналитический алгоритм: полуколичественный анализ набора молекул микроРНК с разнонаправленными (реципрокными) РПЖ-ассоциированным экспрессионными изменениями, расчет концентрационных соотношений «реципрокных пар» молекул микроРНК, определение значимости каждого такого параметра с помощью алгоритма машинного обучения и вычисление итогового диагностического критерия, отражающего вероятность злокачественной природы образований железы. После оценки диагностических показателей на большой коллекции биопсийного материала разработанная тест-система может быть зарегистрирована в качестве изделия медицинского назначения и предложена для практического использования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках исследования удалось выявить несколько потенциально маркерных молекул микроРНК и показать, что оценка их экспрессии в материале очаговых образований ПЖ с целью дифференциальной диагностики протоковой карциномы имеет потенциал практического применения.

Разработка надежной и удобной для клинического применения диагностической технологии потребует продолжения исследований по двум основным направлениям: (1) расширение панели маркерных молекул и разработка алгоритма их комплексного анализа и (2) валидация диагностического потенциала новой технологии с использованием большей коллекции биологических образцов и разработка подходов клинически удобной и эффективной интерпретации результатов ОТ-ПЦР.

Список источников

1. Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, А. О. Шахзадовой. М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2021, 252 с. Доступно по: <https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2021/11/zis-2020-elektronnaya-versiya.pdf>, Дата обращения: 20.06.2023.
2. Мерабишвили М. В. Выживаемость онкологических больных. Выпуск второй. Выпуск 2, ч.1; Санкт-Петербург, 2011, 329 с.
3. Каприн А. Д. Клинические рекомендации. Рак поджелудочной железы. Научный совет Министерства Здравоохранения Российской Федерации, 2019, 67 с. Доступно по: https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2020/09/rak_podzheludochnoj_zhelezy.pdf, Дата обращения: 20.06.2023.

4. Yang J, Xu R, Wang C, Qiu J, Ren B, You L. Early screening and diagnosis strategies of pancreatic cancer: a comprehensive review. *Cancer Commun (Lond)*. 2021 Dec;41(12):1257–1274. <https://doi.org/10.1002/cac2.12204>
5. Sharma A, Kandlakunta H, Nagpal SJS, Feng Z, Hoos W, Petersen GM, et al. Model to Determine Risk of Pancreatic Cancer in Patients With New-Onset Diabetes. *Gastroenterology*. 2018 Sep;155(3):730–739.e3. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.05.023>
6. Madhavan B, Yue S, Galli U, Rana S, Gross W, Müller M, et al. Combined evaluation of a panel of protein and miRNA serum-exosome biomarkers for pancreatic cancer diagnosis increases sensitivity and specificity. *Int J Cancer*. 2015 Jun 1;136(11):2616–2627. <https://doi.org/10.1002/ijc.29324>
7. Michálková L, Horník Š, Sýkora J, Habartová L, Setnička V. Diagnosis of pancreatic cancer via 1H NMR metabolomics of human plasma. *Analyst*. 2018 Dec 3;143(24):5974–5978. <https://doi.org/10.1039/c8an01310a>
8. Bunganič B, Laclav M, Dvořáková T, Bradáč O, Traboulsi E, Suchánek Š, et al. Accuracy of EUS and CEH EUS for the diagnosis of pancreatic tumours. *Scand J Gastroenterol*. 2018;53(10–11):1411–1417. <https://doi.org/10.1080/00365521.2018.1524023>
9. Facciorusso A, Martina M, Buccino RV, Nacchiero MC, Muscatiello N. Diagnostic accuracy of fine-needle aspiration of solid pancreatic lesions guided by endoscopic ultrasound elastography. *Ann Gastroenterol*. 2018;31(4):513–518. <https://doi.org/10.20524/aog.2018.0271>
10. Михетько А. А., Артемьева А. С., Ивко О. В., Ткаченко О. Б., Гринкевич М. В., Сидорова А. Н. и др. Эндоскопическая эндосонография с тонкоигольной аспирационной биопсией в диагностике опухолей поджелудочной железы. *Вопросы онкологии*. 2021;67(3):397–404. <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2021-67-3-397-404>
11. Daoud, A.Z.; Mulholland, E.J.; Cole, G.; McCarthy, H.O. MicroRNAs in Pancreatic Cancer: biomarkers, prognostic, and therapeutic modulators. *BMC Cancer* 2019, 19, 1130. <https://doi.org/10.1186/s12885-019-6284-y>.
12. Ariston Gabriel AN, Wang F, Jiao Q, Yvette U, Yang X, Al-Ameri SA, et al. The involvement of exosomes in the diagnosis and treatment of pancreatic cancer. *Mol Cancer*. 2020 Aug 27;19(1):132. <https://doi.org/10.1186/s12943-020-01245-y>
13. Fathi M, Ghafouri-Fard S, Abak A, Taheri M. Emerging roles of miRNAs in the development of pancreatic cancer. *Biomed Pharmacother*. 2021 Sep;141:111914. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111914>
14. O'Neill RS, Stoita A. Biomarkers in the diagnosis of pancreatic cancer: Are we closer to finding the golden ticket? *World J Gastroenterol*. 2021 Jul 14;27(26):4045–4087. <https://doi.org/10.3748/wjg.v27.i26.4045>
15. Sohrabi E, Rezaie E, Heiat M, Sefidi-Heris Y. An Integrated Data Analysis of mRNA, miRNA and Signaling Pathways in Pancreatic Cancer. *Biochem Genet*. 2021 Oct;59(5):1326–1358. <https://doi.org/10.1007/s10528-021-10062-x>
16. Androvic P, Valihrach L, Elling J, Sjoback R, Kubista M. Two-tailed RT-qPCR: a novel method for highly accurate miRNA quantification. *Nucleic Acids Res*. 2017 Sep 6;45(15):e144. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx588>
17. Andersen CL, Jensen JL, Ørntoft TF. Normalization of real-time quantitative reverse transcription-PCR data: a model-based variance estimation approach to identify genes suited for normalization, applied to bladder and colon cancer data sets. *Cancer Res*. 2004 Aug 1;64(15):5245–5250. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-0496>
18. Keller A, Gröger T, Tschernig T, Solomon J, Laham O, Schaum N, et al. miRNATissueAtlas2: an update to the human miRNA tissue atlas. *Nucleic Acids Res*. 2022 Jan 7;50(D1):D211–D221. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab808>
19. Yonemori K, Kurahara H, Maemura K, Natsugoe S. MicroRNA in pancreatic cancer. *J Hum Genet*. 2017 Jan;62(1):33–40. <https://doi.org/10.1038/jhg.2016.59>
20. Hasegawa S, Eguchi H, Nagano H, Konno M, Tomimaru Y, Wada H, et al. MicroRNA-1246 expression associated with CCNG2-mediated chemoresistance and stemness in pancreatic cancer. *Br J Cancer*. 2014 Oct 14;111(8):1572–1580. <https://doi.org/10.1038/bjc.2014.454>
21. Ta N, Huang X, Zheng K, Zhang Y, Gao Y, Deng L, et al. miRNA-1290 Promotes Aggressiveness in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma by Targeting IKK1. *Cell Physiol Biochem*. 2018;51(2):711–728. <https://doi.org/10.1159/000495328>
22. Szafranska AE, Davison TS, John J, Cannon T, Sipos B, Maghnouj A, et al. MicroRNA expression alterations are linked to tumorigenesis and non-neoplastic processes in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Oncogene*. 2007 Jun 28;26(30):4442–4452. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210228>
23. Hong TH, Park IY. MicroRNA expression profiling of diagnostic needle aspirates from surgical pancreatic cancer specimens. *Ann Surg Treat Res*. 2014 Dec;87(6):290–297. <https://doi.org/10.4174/astr.2014.87.6.290>
24. Korobkina EA, Knyazeva MS, Kil YV, Titov SE, Malek AV. Comparative analysis of RT-qPCR based methodologies for microRNA detection. *Klin Lab Diagn*. 2018;63(11):722–728. <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-11-722-728>

25. Marabita F, de Candia P, Torri A, Tegnér J, Abrignani S, Rossi RL. Normalization of circulating microRNA expression data obtained by quantitative real-time RT-PCR. *Brief Bioinform.* 2016 Mar;17(2):204–212. <https://doi.org/10.1093/bib/bbv056>
26. Knyazeva M, Korobkina E, Karizky A, Sorokin M, Buzdin A, Vorobyev S, et al. Reciprocal Dysregulation of MiR-146b and MiR-451 Contributes in Malignant Phenotype of Follicular Thyroid Tumor. *Int J Mol Sci.* 2020 Aug 19;21(17):5950. <https://doi.org/10.3390/ijms21175950>
27. Xie F, Li C, Zhang X, Peng W, Wen T. MiR-143-3p suppresses tumorigenesis in pancreatic ductal adenocarcinoma by targeting KRAS. *Biomed Pharmacother.* 2019 Nov;119:109424. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109424>
28. Hu Y, Ou Y, Wu K, Chen Y, Sun W. MiR-143 inhibits the metastasis of pancreatic cancer and an associated signaling pathway. *Tumour Biol.* 2012 Dec;33(6):1863–1870. <https://doi.org/10.1007/s13277-012-0446-8>
29. Wei J, Yang L, Wu YN, Xu J. Serum miR-1290 and miR-1246 as Potential Diagnostic Biomarkers of Human Pancreatic Cancer. *J Cancer.* 2020;11(6):1325–1333. <https://doi.org/10.7150/jca.38048>
30. Xu YF, Hannafon BN, Khatri U, Gin A, Ding WQ. The origin of exosomal miR-1246 in human cancer cells. *RNA Biol.* 2019 Jun;16(6):770–784. <https://doi.org/10.1080/15476286.2019.1585738>
31. Князева М. С., Забегина Л. М., Конева О. М., Лютынский В. В., Смирнова О. А., Жамойдик В. И. и др. Оценка степени тяжести цервикальной дисплазии путем анализа микроРНК в материале цервикального мазка. *Онкогинекология.* 2022;(3(43)):57–68. https://doi.org/10.52313/22278710_2022_3_57, EDN: NCDHZF

Информация об авторах:

Князева Маргарита Сергеевна – младший научный сотрудник лаборатории субклеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2079-5061>, SPIN: 1435-9601, AuthorID: 1170597, Scopus Author ID: 57201116352

Шестопалова Татьяна Михайловна – врач-патологоанатом, врач клинической лабораторной диагностики, ООО «Национальный центр клинической морфологической диагностики», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8615-6273>, SPIN: 7579-0951, AuthorID: 1183632

Забегина Лидия Михайловна – младший научный сотрудник лаборатории субклеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0827-1641>, SPIN: 9886-7610, AuthorID: 1108887, Scopus Author ID: 57218621246

Шалаев Андрей Владимирович – младший научный сотрудник лаборатории субклеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6148-6994>, SPIN: 9971-1945, AuthorID: 1165260, Scopus Author ID: 57211294093

Ратникова Анна Константиновна – к.м.н., врач-кардиолог высшей категории, младший научный сотрудник, ФГБУ «СЗОНКЦ им. Л. Г. Соколова ФМБА России», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3279-6448>, SPIN: 4086-7164, AuthorID: 1076748

Кащенко Виктор Анатольевич – д.м.н., профессор, заместитель генерального директора по научно-образовательной работе, ФГБУ «СЗОНКЦ им. Л. Г. Соколова ФМБА России» г. Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4958-5850>, SPIN: 9814-3956, AuthorID: 340730, ResearcherID: K-8778-2015, Scopus Author ID: 7003374162

Воробьев Сергей Леонидович – к.м.н., директор, врач-патологоанатом, ООО «Национальный центр клинической морфологической диагностики», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7817-9069>, SPIN: 5920-0603, AuthorID: 934523

Малек Анастасия Валерьевна ✉ – д.м.н., заведующая лабораторией субклеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5334-7292>, SPIN: 6445-3432, AuthorID: 129474, ResearcherID: R-8804-2016, Scopus Author ID: 35741075000

Участие авторов:

Князева М. С. – разработка методов анализа, проведение лабораторного этапа работы, включая выделение РНК, ОТ-ПЦР, анализ результатов, работа над текстом, подготовка иллюстраций;

Шестопалова Т. М. – гистологическая диагностика, выбор и подготовка материала, микродиссекция, подготовка микрофотографий;

Забегина Л. М. – разработка и реализация алгоритма расчета соотношения концентраций «реципрокных пар» микроРНК, участие в лабораторных этапах работы, анализ результатов;

Шалаев А. В. – участие в лабораторных этапах работы, включая выделение РНК, ОТ-ПЦР, анализ результатов, подготовка иллюстраций;

Ратникова А. К. – участие в клинических этапах работы, включая подбор пациентов и сбор клинических данных;

Кащенко В. А. – концепция исследования, организация клинических этапов работы, включая подбор пациентов и сбор клинических данных;

Воробьев С. Л. – концепция исследования, организация лабораторной части работы, включая подготовку и проведение гистологических исследований, научное редактирование текста;

Малек А. В. – концепция исследования, организация лабораторной части исследования, включая выделение и анализа микроРНК, анализ результатов ОТ-ПЦР, итоговые выводы, подготовка иллюстраций, написание исходного текста.

МОДЕЛИРОВАНИЕ РАКА ЖЕЛУДКА НА ИММУНОДЕФИЦИТНЫХ МЫШАХ ПУТЕМ ОРТОТОПИЧЕСКОЙ КСЕНОТРАНСПЛАНТАЦИИ

Л. З. Курбанова, Т. С. Карасёв, А. С. Гончарова[✉], Е. Н. Колесников, А. Ю. Максимов,
М. А. Аверкин, А. В. Галина, М. В. Романова, М. А. Гусарева, М. С. Зинькович

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

✉ fateyeva_a_s@list.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Создание перевиваемой ортотопической PDX-модели рака желудка на иммунодефицитных мышцах линии Balb/c Nude при помощи имплантационного и инъекционного способов.

Материалы и методы. С целью создания ортотопической PDX-модели рака желудка человека были применены 2 способа – инъекционный и имплантационный. Первый способ заключался в инъекции суспензии механически дезагрегированной опухоли пациента после фильтрации в стенку желудка мышей линии Balb/c Nude. Для второго способа мелкие фрагменты (3 × 3 × 3 мм) опухоли пациентов были имплантированы мышам в стенку желудка по большой кривизне с рассечением серозно-мышечного слоя.

Результаты. При применении имплантационного способа получения PDX-модели рака желудка на иммунодефицитных мышцах линии Balb/c Nude в ходе процедур контрольной лапаротомии, был обнаружен положительный результат приживления опухолевого материала при 1-ой и 3-ей процедурах. Инъекционный способ не дал эффективного результата – не была получена ни одна модель. Гистотип полученных PDX-моделей сравнивали с донорской опухолью и подтверждали при помощи гистологического исследования (окрашивание гематоксилином и эозином). Степень дифференцировки оставалась стабильной и не менялась в результате пассирования ксенографта, что показало идентичность полученной модели гистотипу донорской опухоли.

Заключение. Представленный имплантационный метод создания модели дает эффективный результат приживления опухоли. Полученная модель позволяет использовать её для проверки эффективности противоопухолевых или антиметастатических препаратов, возможных исследований функций биомаркеров, а также для оценки микроокружения опухоли желудка.

Ключевые слова: ортотопическая ксенотрансплантация, рак желудка, иммунодефицитные мыши, PDX-модели, трансплантация

Для цитирования: Курбанова Л. З., Карасёв Т. С., Гончарова А. С., Колесников Е. Н., Максимов А. Ю., Аверкин М. А., Галина А. В., Романова М. В., Гусарева М. А., Зинькович М. С. Моделирование рака желудка на иммунодефицитных мышцах путем ортотопической ксенотрансплантации. Южно-Российский онкологический журнал. 2023; 4(3):36-43.
<https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-3-4>, <https://elibrary.ru/nuxwww>

Для корреспонденции: Гончарова Анна Сергеевна – к. б. н., заведующая испытательным лабораторным центром, 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: fateyeva_a_s@list.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0676-0871>
SPIN: 7512-2039, AuthorID: 553424
Scopus Author ID: 57215862139

Соблюдение этических стандартов: при выполнении данного исследования все манипуляции с лабораторными животными проводились в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (протокол № 22/126 от 08.10.2021 г.).

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 07.02.2023; одобрена после рецензирования 05.07.2023; принята к публикации 14.09.2023.

© Курбанова Л. З., Карасёв Т. С., Гончарова А. С., Колесников Е. Н., Максимов А. Ю., Аверкин М. А., Галина А. В., Романова М. В., Гусарева М. А., Зинькович М. С., 2023

GASTRIC CANCER MODELING IN IMMUNODEFICIENT MICE WITH ORTHOTOPIC XENOTRANSPLANTATION

L. Z. Kurbanova, T. S. Karasev, A. S. Goncharova✉, E. N. Kolesnikov, A. Yu. Maksimov, M. A. Averkin, A. V. Galina, M. V. Romanova, M. A. Gusareva, M. S. Zinkovich

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

ABSTRACT

Purpose of the study. Creation of a transplantable orthotopic PDX model of gastric cancer in Balb/c Nude immunodeficient mice using implantation and injection.

Materials and methods. Two methods, that are injection and implantation, were used to create an orthotopic PDX model of human gastric cancer. The first method involved injections of a suspension of a mechanically disaggregated patient's tumor after filtration into the gastric wall of Balb/c Nude mice. For the second method, small fragments (3 × 3 × 3 mm) of patients' tumors were implanted in the gastric wall of mice along the greater curvature with a dissection of the serous muscular layer.

Results. Control laparotomy in Balb/c Nude immunodeficient mice showed a successful engraftment of the tumor material at the 1st and 3rd procedures when using the implantation method for the creation of a PDX model of gastric cancer. The injection method was ineffective, and no models were created. The histological type of the obtained PDX models was compared to the type of the donor tumor by histological examination (hematoxylin and eosin staining). The tumor grade remained stable and did not change during xenograft passage, which showed that the obtained model was identical to the histotype of the donor tumor.

Conclusion. The presented implantation method for the model creation results in effective tumor engraftment. The developed model can be used to test the effectiveness of anticancer or antimetastatic drugs, for studying the functions of biomarkers, or in assessing the microenvironment of a gastric cancer.

Keywords: orthotopic xenotransplantation, gastric cancer, immunodeficient mice, PDX models, transplantation

For citation: Kurbanova L. Z., Karasev T. S., Goncharova A. S., Kolesnikov E. N., Maksimov A. Yu., Averkin M. A., Galina A. V., Romanova M. V., Gusareva M. A., Zinkovich M. S. Gastric cancer modeling in immunodeficient mice with orthotopic xenotransplantation. South Russian Journal of Cancer. 2023; 4(3): 36-43. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-3-4>, <https://elibrary.ru/nyxwwn>

For correspondence: Anna S. Goncharova – Cand. Sci. (Biol.), head of experimental laboratory center, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation.

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

E-mail: fateyeva_a_s@list.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0676-0871>

SPIN: 7512-2039, AuthorID: 553424

Scopus Author ID: 57215862139

Compliance with ethical standards: all manipulations with laboratory animals were carried out in accordance with the "Rules for carrying out work using experimental animals" when performing the study. The study was approved by the Ethics Committee of the National Medical Research Centre for Oncology (Protocol No. 22/126 of 08/10/2021).

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 07.02.2023; approved after reviewing 05.07.2023; accepted for publication 14.09.2023.

ВВЕДЕНИЕ

Ежегодно рак желудка впервые диагностируется более чем у 1 миллиона человек. На настоящий момент рак желудка остается четвертой причиной смертности от рака [1; 2]. Лечение пациентов с диагнозом рак желудка заключается в применении хирургических методов, химиотерапии, иммунотерапии. Однако все эти методы имеют ограниченную эффективность. За 20-летний период доля больных с метастазами выросла с 24 до 44 %, что указывает на острую потребность в оптимизированном подходе как к лечению, так и к диагностике [3]. Всё больше усилий прилагается к поиску эффективных способов исследования и понимания биологии и терапевтических особенностей рака желудка.

Одним из таких подходов является использование ортотопических моделей рака, полученных от пациентов (PDX- patient derived xenograft) [4; 5]. Основным преимуществом PDX-моделей является то, что опухолевые клетки имеют тенденцию последовательно повторять черты исходной опухоли, а метод ортотопической имплантации может лучше имитировать естественную среду опухоли. Показано, что для некоторых типов опухолей, подкожная модель имеет более низкую скорость приживления, чем ортотопическая [6]. Ортотопические ксенотрансплантаты опухолей являются одной из лучших экспериментальных моделей для представления механизмов спонтанного метастазирования [7; 8].

Данная модель является важным инструментом для обеспечения научного обоснования актуальности новых терапевтических комбинаций при раке желудка. Для изучения роста и метастазирования рака желудка, а также для проверки эффективности лечения и терапии, а также тестирования новых фармакологических субстанций были разработаны различные методы ортотопической трансплантации бестимусным мышам (Balb/c Nude) [9; 10]. Хотя для разработки ортотопической модели используется несколько методов, до сих пор не определен оптимальный способ её создания.

Цель исследования: создание ортотопической PDX-модели рака желудка на иммунодефицитных мышах линии Balb/c Nude при помощи имплантационного и инъекционного способов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Опухолевый материал

Образцы опухоли, необходимые для ортотопической трансплантации лабораторным животным, были получены от пациентов с диагнозом рак желудка, проходивших лечение в 2022 г., от которых были получены письменные разрешения на использование образцов в исследовательских целях.

Лабораторные животные

Все процедуры, связанные с исследованиями на мышах *in vivo*, были проведены согласно «Руководству по содержанию и использованию лаборатор-

Таблица 1. Характеристики пациентов-доноров опухолевого материала и оценка результатов ксенотрансплантации иммунодефицитным мышам линии Balb/c Nude

Способ получения ксенотрансплантата	Характеристики пациентов-доноров опухолевого материала						Оценка результатов имплантации (1-я генерация)
	Номер процедуры	Пол пациента-донора	Способ получения образца	Стадия TNM	Гистология	Предшествующее лечение	
Имплантация фрагмента опухоли	1	Ж	Дистальная субтотальная резекция	$T_3N_2M_0$	Низкодифференцированная аденокарцинома	-	7/6
Инъекция суспензии опухоли	2						7/0
Имплантация фрагмента опухоли	3	Ж	Дистальная субтотальная резекция	$T_3N_1M_0$	Низкодифференцированная аденокарцинома	-	7/5
Инъекция суспензии опухоли	4						7/0

ных животных» [11]. Для создания опухолевых моделей использовали 39 самок иммунодефицитных мышей линии Balb/c Nude. Животные содержались в SPF-зоне вивария, в индивидуально вентилируемых клетках при температуре 21–23 °С. Мышам был обеспечен свободный доступ к корму и воде.

Создание ортотопической модели

Получение ортотопической PDX-модели рака желудка осуществляли двумя способами. Первый способ заключался в имплантации фрагмента опухоли пациента в стенку желудка мышей Balb/c Nude по большой кривизне. Второй способ – инъекция гомогенизированной измельченной опухоли пациента в стенку желудка мышей Balb/c Nude по большой кривизне. Опухолевый материал был получен от двух пациентов. Общие характеристики пациентов и оценка результатов приживления опухоли животным представлены в таблице 1.

Оценку приживления и роста ксенографта осуществляли, выполняя контрольные лапаротомии через 20 и 40 дней после имплантации и введения опухолевого материала. Хирургические манипуляции

выполняли с применением инъекционной анестезии для лабораторных животных, используя ветеринарные препараты «Ксилазин» и «Золетил-100».

Оценка роста опухолевых ксенографтов

Измерения опухолевых узлов выполняли в ходе лапаротомии при помощи штангенциркуля. Объем опухолевых узлов рассчитывали по формуле – $V = L \times W^2 / 2$, где V – объем опухоли (мм³), L, W – линейные размеры опухоли (мм).

Гистологическое исследование

Фрагменты опухолевой ткани фиксировали в 10 % формалине в течение 24 ч, затем подвергали обезвоживанию, после чего заключали в парафин. После этого готовили микросрезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином согласно стандартной методике. Гистологическому исследованию подвергали донорскую и ксеногенную опухоль.

Статистический анализ

Статистическая обработка данных была выполнена с использованием пакета программ Statistica 8.0. Результаты представлены в виде значения медианы [25-й и 75-й процентиля].

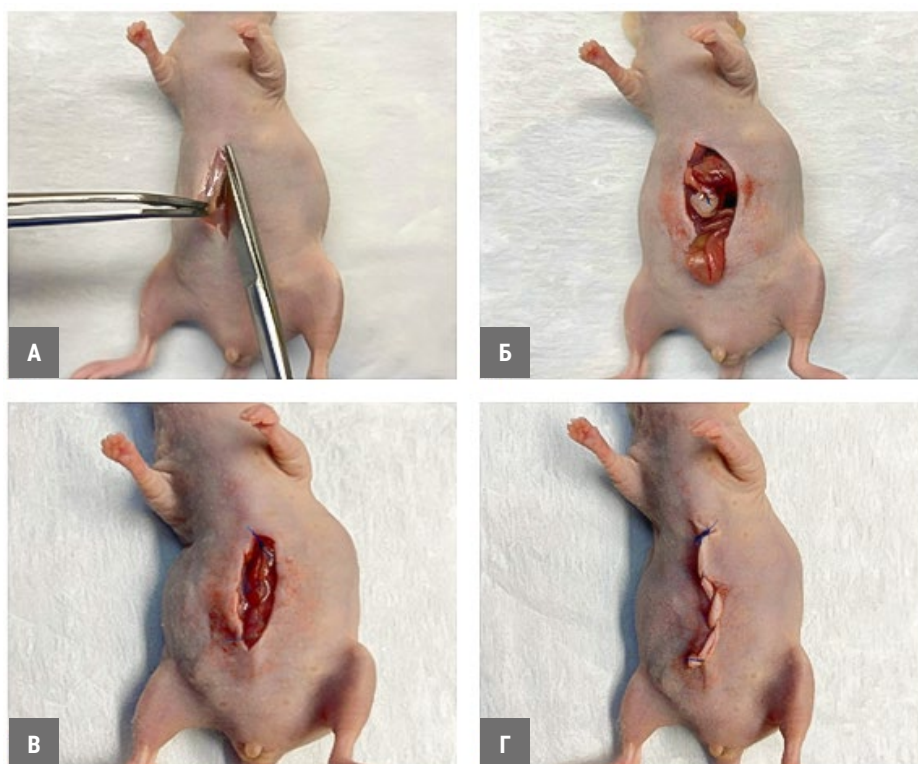


Рис. 1. Создание ортотопической PDX-модели путем имплантации фрагмента опухоли желудка человека в стенку тела желудка иммунодефицитных мышей. А – рассечение кожи, мышц и ткани брюшной стенки иммунодефицитной мыши; Б – имплантация фрагмента опухоли человека в тело желудка мыши; В – ушивание ткани брюшной стенки мыши; Г – конечный вид после трансплантации.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Моделирование рака желудка на иммунодефицитных мышях линии Balb/c Nude осуществляли двумя способами – метод инъекции суспензии клеток опухоли пациента; метод имплантации фрагмента опухоли пациента. Для создания ксенографтов было выполнено 4 процедуры (по 2 процедуры на каждый метод). В рамках одной процедуры создание модели производили на группе из семи животных.

После хирургического вмешательства фрагмент опухоли пациента промывали питательной средой (DMEM и 1 % пенициллин/стрептомицин) и удаляли участки с признаками некроза.

Первый способ создания PDX-модели осуществляли следующим образом. Опухоль разрезали на мелкие фрагменты (3 × 3 × 3 мм), затем выполняли имплантацию полученного фрагмента в стенку же-



Рис. 2. Ортоотопический ксенографт рака желудка человека на теле желудка иммунодефицитной мыши линии Balb/c Nude.

лудка иммунодефицитной мыши Balb/c Nude. После наркотизации животного при помощи седативного препарата «Ксилазин» в концентрации 20 мг/кг и препарата для общей анестезии «Золетил 100» в концентрации 50 мг/кг производили послойное рассечение кожи и ткани брюшной стенки мыши. После расширения операционной раны при помощи анатомических пинцетов, выполняли выделение желудка и осуществляли рассечение серозно-мышечного слоя желудка по большой кривизне. Затем полученный фрагмент опухоли донора пришивали при помощи лигатуры к стенке желудка в месте создания разреза и послойно зашивали брюшную полость и кожу (рис. 1).

При применении имплантационного способа получения PDX-модели в ходе процедур контрольной лапаротомии, был обнаружен положительный результат приживления опухолевого материала (рис. 2).

Опухоли полученных моделей PDX сохранили идентичные гистологические особенности исходных опухолей пациентов-доноров (рис. 3).

Второй способ заключался в следующем: фрагменты опухоли подвергали механической дезагрегации, затем полученную суспензию переносили во флакон, пропускали через фильтр и набирали в шприц. После этого проводили инъекцию в соответствующий участок стенки желудка иммунодефицитной мыши.

ОБСУЖДЕНИЕ

При применении инъекционного способа получения PDX-модели в ходе процедур контрольной лапаротомии не было обнаружено роста опухоли. Можно предположить, что отсутствие положительного результата в виде приживления опухолевого материала

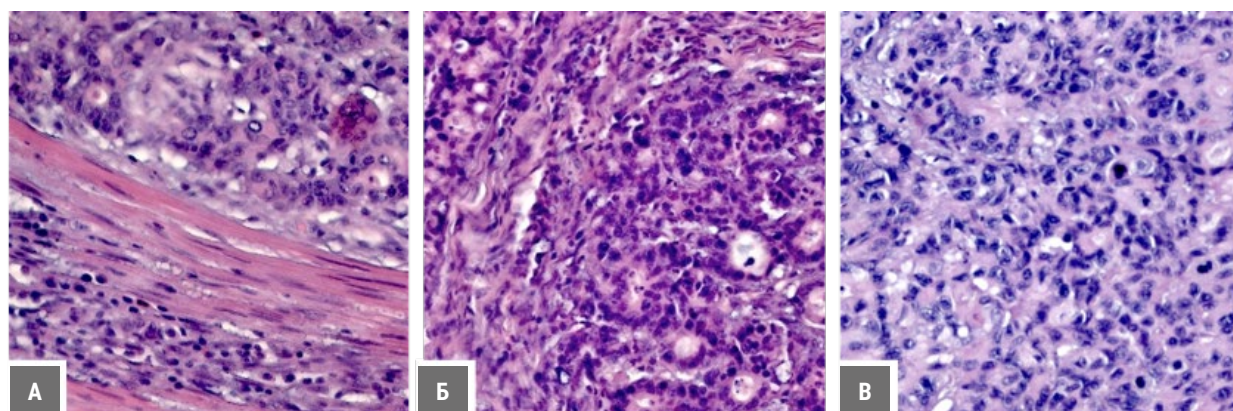


Рис. 3. Гистологические препараты рака желудка. А – опухоль пациента (донорская опухоль). Окраска гематоксилином и эозином. × 200; Б – ксенографт, 1-я генерация; В – ксенографт, 2-я генерация.

и формирования опухолевого узла, вероятно, было связано с явлением апоптоза – формы апоптоза, возникающего в ответ на потерю связи с матриксом или обусловленного отрывом клетки от клеток-соседей, вызванным механической дезагрегацией. Таким образом, метод инъекции суспензии опухолевых клеток является недостаточно эффективным в связи со сложностью манипуляций и отсутствием результативности, как было показано в нашем исследовании и в работах других авторов [12; 13].

Процедура имплантации № 1 показала результат с 86 % приживлением и ростом опухоли в результате ксенотрансплантации во время первой генерации. Первая лапаротомия была произведена через 20 дней после операции. По результатам медиана объемов ксенографтов составила 99,61 [70,44; 138,29]. При лапаротомии, выполненной через 40 дней, медиана составила 221,21 [184,27; 202,17]. Вторая генерация показала 100 % приживление и более быстрый рост опухоли. Медианы объемов ксенографтов составили 125,56 [106,21; 168,51] и 288,61 [223,48; 344,1] через 20 и 40 дней после имплантации соответственно (табл. 2).

В результате процедуры № 3 наблюдался рост ксенографтов у пяти из семи животных в группе при 1-ой генерации. При лапаротомии на 20 день по результатам замеров медиана объемов ксенографтов составила 67,37 [55,35; 118,59]. В результате проведения лапаротомии на 40 день медиана размеров опухоли составил 126,77 [104,76; 169,99].

Вторая генерация также характеризовались более высокими темпами роста. Медианы объемов ксенографтов второй генерации составили 157,71 [102,16;

172,96] и 291,5 [251,42; 346,32] через 20 и 40 дней после имплантации соответственно (табл. 2).

Опухолевая патология как у PDX, так и у пациентов представляла собой низкодифференцированную аденокарциному солидного типа. Не было обнаружено изменений степени дифференцировки в результате пассирования ксенографта (в пределах двух полученных генераций). Полученные наблюдения указывают на способность ксенотрансплантированных опухолей ранних генераций (1-я и 2-я генерации) достаточно точно отображать морфологические черты донорских опухолей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

К настоящему времени разработан ряд методов ортотопической трансплантации, однако каждый из них имеет недостатки, которые ограничивают его широкое использование. В рамках нашего исследования были проанализированы 2 способа создания ортотопической модели рака желудка – инъекционный и имплантационный. Инъекционный способ оказался нерезультативным. Способ имплантации дал результат с высоким уровнем приживления опухоли – 86 % и 100 % от двух опухолевых материалов пациентов. Представленный нами метод создания модели позволяет трансплантировать ткани опухоли в желудок ортотопически без дополнительных трудозатрат, а также дает эффективный результат приживления опухоли. Полученные модели потенциально могут быть использованы для скрининга и оценки известных и новых лекарственных препаратов.

Таблица 2. Объемы ортотопических ксенографтов рака желудка человека двух последовательных генераций через 20 и 40 дней после имплантации опухолевого фрагмента иммунодефицитным мышам линии Balb/c Nude, представленные в виде медианы (М) и межквартильного размаха (процедура имплантации № 1, 3)

№ процедуры	Генерация	Лапаротомия	М	25 процентиль	75 процентиль
1 процедура	1	20 дней	99,61	70,44	138,29
		40 дней	221,21	184,27	202,17
	2	20 дней	125,56	106,21	168,51
		40 дней	288,61	223,48	344,1
3 процедура	1	20 дней	67,37	55,35	118,59
		40 дней	126,77	104,76	169,99
	2	20 дней	157,71	102,16	172,96
		40 дней	291,5	251,42	346,32

Список источников

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021 May;71(3):209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
2. Кит О. И., Касаткин В. Ф., Максимов А. Ю., Мамулян Х. Г. Комбинированная гастрэктомия при местнораспространенном раке желудка после проведения неоадьювантной полихимиотерапии. *Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки.* 2012;(4):108–111. EDN: PCIYTL
3. Bernards N, Creemers GJ, Nieuwenhuijzen G. A. P, Bosscha K, Pruijt JFM, Lemmens VEPP. No improvement in median survival for patients with metastatic gastric cancer despite increased use of chemotherapy. *Ann Oncol.* 2013 Dec;24(12):3056–3060. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdt401>
4. Corso S, Isella C, Bellomo SE, Apicella M, Durando S, Migliore C, et al. A Comprehensive PDX Gastric Cancer Collection Captures Cancer Cell-Intrinsic Transcriptional MSI Traits. *Cancer Res.* 2019 Nov 15;79(22):5884–5896. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-19-1166>
5. Кит О. И., Ващенко Л. Н., Дашкова И. Р., Кутилин Д. С., Максимов А. Ю., Гончарова А. С. Ксеногенные модели рака молочной железы человека в экспериментальных исследованиях. *Современные проблемы науки и образования.* 2019;(6):184–184. EDN: OWQEZP
6. Hoffman RM. Orthotopic metastatic (MetaMouse) models for discovery and development of novel chemotherapy. *Methods Mol Med.* 2005;111:297–322. <https://doi.org/10.1385/1-59259-889-7:297>
7. Julien S, Merino-Trigo A, Lacroix L, Pocard M, Goéré D, Mariani P, et al. Characterization of a large panel of patient-derived tumor xenografts representing the clinical heterogeneity of human colorectal cancer. *Clin Cancer Res.* 2012 Oct 1;18(19):5314–5328. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-12-0372>
8. Киблицкая А. А., Карасев Т. С., Гончарова А. С., Максимов А. Ю. Пути моделирования опухолевого роста у мышей в экспериментальных исследованиях рака желудка человека. *Южно-российский онкологический журнал.* 2021;2(4):26–37. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2021-2-4-4>, EDN: BKTBYG
9. Busuttill RA, Liu DS, Di Costanzo N, Schröder J, Mitchell C, Boussioutas A. An orthotopic mouse model of gastric cancer invasion and metastasis. *Sci Rep.* 2018 Jan 16;8(1):825. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-19025-y>
10. Reddavid R, Corso S, Moya-Rull D, Giordano S, Degiuli M. Patient-Derived Orthotopic Xenograft models in gastric cancer: a systematic review. *Updates Surg.* 2020 Dec;72(4):951–966. <https://doi.org/10.1007/s13304-020-00751-4>
11. Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных. Под ред. И. В. Белозерцевой, Д. В. Блинова, М. С. Красильщиковой. Восьмое издание. М.: Общество с ограниченной ответственностью «ИРБИС», 2017, 304 с. EDN: ZRJVDJ
12. Kuwata T, Yanagihara K, Iino Y, Komatsu T, Ochiai A, Sekine S, et al. Establishment of Novel Gastric Cancer Patient-Derived Xenografts and Cell Lines: Pathological Comparison between Primary Tumor, Patient-Derived, and Cell-Line Derived Xenografts. *Cells.* 2019 Jun 14;8(6):585. <https://doi.org/10.3390/cells8060585>
13. Kang W, Maher L, Michaud M, Bae SW, Kim S, Lee HS, et al. Development of a Novel Orthotopic Gastric Cancer Mouse Model. *Biol Proced Online.* 2021 Jan 4;23(1):1. <https://doi.org/10.1186/s12575-020-00137-1>

Информация об авторах:

Курбанова Луиза Зулкаидовна – младший научный сотрудник испытательного лабораторного центра, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3436-1325>, SPIN: 9060-4853, AuthorID: 1020533

Карасёв Тимофей Сергеевич – аспирант отделения абдоминальной онкологии № 1 с группой рентгенэндоваскулярных методов диагностики и лечения, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5071-2028>

Гончарова Анна Сергеевна – к.б.н., заведующая испытательным лабораторным центром, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0676-0871>, SPIN: 7512-2039, AuthorID: 553424, Scopus Author ID: 57215862139

Колесников Евгений Николаевич – заведующий отделением абдоминальной онкологии № 1 с группой рентгенэндоваскулярных методов диагностики и лечения, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9749-709X>, SPIN: 8434-6494, AuthorID: 347457, Scopus Author ID: 57190297598

Максимов Алексей Юрьевич – д.м.н., профессор, заместитель генерального директора по перспективным научным разработкам, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1397-837X>, SPIN: 7322-5589, AuthorID: 710705, Scopus Author ID: 56579049500

Аверкин Михаил Александрович – врач-онколог отделения абдоминальной онкологии № 1 с группой рентгенэндоваскулярных методов диагностики и лечения, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4378-1508>, SPIN: 6106-3997, AuthorID: 734378

Галина Анастасия Владимировна – младший научный сотрудник испытательного лабораторного центра, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7823-3865>, SPIN: 9171-4476, AuthorID: 1071933, Scopus Author ID: 57221460594

Романова Мария Вадимовна – младший научный сотрудник испытательного лабораторного центра, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8734-9210>, SPIN: 5148-0830, AuthorID: 1032029, Scopus Author ID: 57217235360

Гусарева Марина Александровна – к.м.н., заведующая отделением радиотерапии № 1, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9426-9662>, SPIN: 9040-5476, AuthorID: 705242, Scopus Author ID: 56613594900

Зинькович Михаил Сергеевич – врач-радиотерапевт отделения радиотерапии № 1, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2460-0038>, SPIN: 1072-9674, AuthorID: 735168

Участие авторов:

Курбанова Л. З. – систематизация и анализ полученных данных, написание текста рукописи;
 Карасёв Т. С. – обзор публикаций, написание текста рукописи;
 Гончарова А. С. – концепция и дизайн исследования;
 Колесников Е. Н. – проведение хирургических манипуляций;
 Максимов А. Ю. – проведение хирургических манипуляций, интерпретация данных;
 Аверкин М. А. – анализ полученных данных, техническое редактирование статьи;
 Галина А. В. – проведение экспериментальной части исследования, техническое оформление;
 Романова М. В. – анализ полученных данных, интерпретация результатов;
 Гусарева М. А. – научное редактирование статьи;
 Зинькович М. С. – оформление библиографии, редактирование текста статьи.

РЕДКИЙ КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ СИРИНГОМИЕЛИИ НА ФОНЕ АНОМАЛИИ КИАРИ I ТИПА ПОСЛЕ ОПЕРАТИВНОГО ВМЕШАТЕЛЬСТВА

Э. Е. Росторгуев, Н. С. Кузнецова[✉], А. А. Маслов, В. Е. Хатюшин, Б. В. Матевосян, Г. А. Резник,
О. В. Пандова, Е. В. Шалашная

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

✉ kyznet.nat@gmail.com

РЕЗЮМЕ

На сегодняшний день мальформация Арнольда-Киари определяется как патология развития краниовертебрального перехода, проявляющаяся несоответствием объема и содержимого задней черепной ямки, что в свою очередь приводит к компрессии неврологических структур и изменению характера ликворотока. Существует несколько теорий корреляции между мальформацией Киари и сирингомиелией, однако точный механизм развития сирингомиелии остается предметом для дискуссии.

В статье описан клинический случай лечения ребенка с аномалией Киари I типа и сирингомиелией шейных и грудных сегментов спинного мозга, у которого после проведенной декомпрессии задней черепной ямки «полного объема» в раннем послеоперационном периоде возникло прогрессирование сирингомиелии с развитием грубого неврологического дефицита. Учитывая отсутствие стандартных подходов в лечении таких послеоперационных осложнений, принято решение о выжидательной тактике ведения пациента. С двадцатых суток послеоперационного периода у пациента отмечен полный регресс неврологического дефицита и положительная магнитно-резонансная томография (МРТ) динамика сирингомиелии.

Представленный клинический случай поднимает не только вопросы патофизиологии прогрессирования сирингомиелии после выполнения декомпрессии задней черепной ямки «полного объема», но и определение тактики ведения пациента в случае осложнённого послеоперационного течения заболевания.

Интерес представленного клинического случая заключается в том, что описано редко встречающееся усугубление сирингомиелии с нарастанием неврологической симптоматики в раннем послеоперационном периоде после выполнения декомпрессии задней черепной ямки «полного объема».

Основываясь на данных нашего наблюдения, выжидательная тактика ведения пациента, несмотря на прогрессирование сирингомиелии с усугублением неврологического дефицита, после декомпрессии задней черепной ямки позволила добиться благополучного отдаленного результата течения заболевания, связанного с аномалией Киари I типа.

Ключевые слова: прогрессирование сирингомиелии, аномалия Киари I, аномалия краниовертебрального перехода, декомпрессия задней черепной ямки

Для цитирования: Росторгуев Э. Е., Кузнецова Н. С., Маслов А. А., Хатюшин В. Е., Матевосян Б. В., Резник Г. А., Пандова О. В., Шалашная Е. В. Редкий клинический случай прогрессирования сирингомиелии на фоне аномалии Киари I типа после оперативного вмешательства. Южно-Российский онкологический журнал. 2023; 4(3):44-50. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-3-5>, <https://elibrary.ru/olgomd>

Для корреспонденции: Кузнецова Наталья 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: kyznet.nat@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2337-326X>

SPIN: 8553-3081, AuthorID: 920734

ResearcherID: AAG-8960-2020

Scopus Author ID: 57196005138

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 24.01.2023; одобрена после рецензирования 05.07.2023; принята к публикации 14.09.2023.

© Росторгуев Э. Е., Кузнецова Н. С., Маслов А. А., Хатюшин В. Е., Матевосян Б. В., Резник Г. А., Пандова О. В., Шалашная Е. В., 2023

A RARE CLINICAL CASE OF SYRINGOMYELIA PROGRESSION IN THE PRESENCE OF CHIARI I MALFORMATION FOLLOWING THE SURGERY

E. E. Rostorguev, N. S. Kuznetsova✉, A. A. Maslov, V. E. Hatyushin, B. V. Matevosyan, G. A. Reznik, O. V. Pandova, E. V. Shalashnaya

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

✉ kyznet.nat@gmail.com

ABSTRACT

Today, an Arnold-Chiari malformation is defined as a developmental pathology of the craniovertebral junction manifested by a discrepancy between the volume and contents of the posterior cranial fossa, which in turn leads to compression of neurological structures and changes in the cerebrospinal fluid circulation. There are several theories of the correlation between Chiari I malformation and syringomyelia, but the exact mechanism of syringomyelia development remains unclear.

This article describes a clinical case of treatment of a child with Chiari I malformation and syringomyelia within the cervical and thoracic segments of the spinal cord; after complete posterior fossa decompression, syringomyelia progressed in the early postoperative period with the development of a severe neurological deficiency. Since there is no standard treatment of such postoperative complications, a decision was made on the expectant management of the patient. From the twentieth day of the postoperative period, the patient showed complete regression of the neurological deficiency and positive MRI dynamics of syringomyelia.

The presented clinical case raises such issues as not only the pathophysiology of syringomyelia progression after complete posterior fossa decompression, but also the determination of patient management tactics in case of a complicated postoperative course of the disease.

The presented clinical case is of interest due to the rarely described aggravation of syringomyelia with enhancing neurological symptoms in the early postoperative period after complete posterior fossa decompression.

Our observation suggests that the expectant management of the patient, despite syringomyelia progression with neurological deficiency aggravation after posterior fossa decompression, allowed a favorable long-term outcome of Chiari I malformation.

Keywords: syringomyelia progression, Chiari I malformation, craniovertebral junction anomaly, posterior fossa decompression

For citation: Rostorguev E. E., Kuznetsova N. S., Maslov A. A., Hatyushin V. E., Matevosyan B. V., Reznik G. A., Pandova O. V., Shalashnaya E. V. A rare clinical case of syringomyelia progression in the presence of Chiari I malformation following the surgery. South Russian Journal of Cancer. 2023; 4(3): 44-50. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-3-5>, <https://elibrary.ru/olgomd>

For correspondence: Natalia S. Kuznetsova – 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: kyznet.nat@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2337-326X>

SPIN: 8553-3081, AuthorID: 920734

ResearcherID: AAG-8960-2020

Scopus Author ID: 57196005138

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 24.01.2023; approved after reviewing 05.07.2023; accepted for publication 14.09.2023.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время мальформация Арнольда-Киари определяется как патология развития краниовертебрального перехода, проявляющаяся несоответствием объема задней черепной ямки и мозговых структур, что, в свою очередь, приводит к пролабированию миндалин мозжечка ниже линии Чемберлена, компрессии неврологических структур в пределах кранио-вертебрального перехода и нарушению ликвородинамики различной степени выраженности [1].

В клинической практике, наиболее распространенной является аномалия Киари I типа. По данным литературы, она встречается с частотой 1 на 1000 новорожденных, с преобладанием женского пола 1,3 к 1 [2]. В 20–85 % случаев Киари I потенциально ассоциирована с сирингомиелией, чаще поражающей шейный отдел, за которой следует комбинированное поражение шейно-грудного отдела (рис. 1). Однако в настоящее время нет единого мнения, объясняющего этиологию и прогрессирование сирингомиелии.

В неврологическом аспекте аномалия Киари I типа в большинстве случаев остается бессимптомной, что создает определенные трудности в диагностике заболевания, и выявляется при выполнении магнитно-резонансной томографии (МРТ) по другим причинам. При манифестации заболевания наиболее частым симптомом как у взрослых, так и у детей является головная боль и значительно реже сегментарные нарушения температурной чувствительности [3].

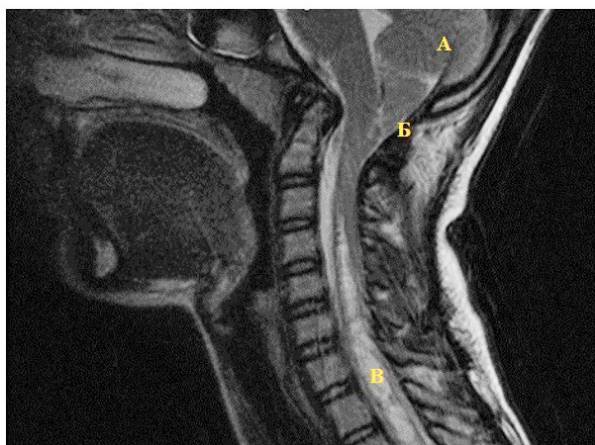


Рис. 1. Аномалия Арнольда-Киари тип I: А – мозжечок; Б – пролабирование миндалин мозжечка ниже большого затылочного отверстия; В – сирингомиелия на шейном уровне.

По современным представлениям МРТ ЦНС является основным и широко используемым диагностическим методом, позволяющим получить изображение анатомии краниовертебрального перехода с выявлением гидроцефалии и/или сирингомиелии, а также синдрома фиксированного спинного мозга [4].

Основным методом лечения больных с аномалией краниовертебрального перехода является хирургический, показанием к которому служит наличие неврологической симптоматики, связанной как сирингомиелией, так и с вклиниванием миндалин мозжечка [5]. Хирургическое вмешательство направлено на восстановление ликвородинамики на уровне краниовертебрального перехода. Оптимальный доступ заключается в выполнении суб-окципитальной краниоэктомии с декомпрессивным расширением большого затылочного отверстия, часто с ламинэтомией задней дужки C1, а при необходимости – и дужки C2 позвонка, выполняется пластика твердой мозговой оболочки.

Таким образом, вмешательство, обозначенное как декомпрессия задней черепной ямки «полного объема», является наиболее распространенным нейрохирургическим подходом, направленным на восстановление тока спинномозговой жидкости на уровне большого затылочного отверстия.

Однако здесь существует множество вопросов: какой объем декомпрессии требуется для успешного изменения патологии ликворотока, какие результаты лечения принято считать удовлетворительными, какую тактику выбрать при дальнейшем прогрессировании сирингомиелии в послеоперационном периоде, какой механизм ответственен за неэффективность лечения, какая необходимость и очередность дополнительных оперативных вмешательств [6]?

Приведенный нами клинический пример показывает трудность определения тактики при крайне редко встречающемся усугублении сирингомиелии с развитием грубого неврологического дефицита после выполнения оперативного вмешательства «полного объема».

Описание клинического случая

Пациент Т., 17 лет, обратилась в КДО ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России с жалобами на выраженную головную боль в затылочной области. Болевой синдром по визуально-аналоговой шкале боли – 7 баллов. В неврологическом статусе: общемозговой синдром; сухожильные и пери-

остальные рефлексы в конечностях симметричные; мышечная сила 5 баллов; сегментарных чувствительных нарушений не выявлено. По данным МРТ ЦНС (рис. 2): опущение миндалин мозжечка на 18 мм ниже большого затылочного отверстия (рис. 2А). Данные, подтверждающие наличие гидроцефалии отсутствуют. Сирингомиелия шейного и грудного отделов спинного мозга с расширени-

ем центрального канала спинного мозга до 6 мм (рис. 2Б, В). Отсутствие фиксации спинного мозга на поясничном уровне.

Пациенту выполнено хирургическое вмешательство в объеме резекции заднего края большого затылочного отверстия и заднего полукольца атланта (рис. 3); Y-образного вскрытия значительно гипертрофированной твердой мозговой оболочки

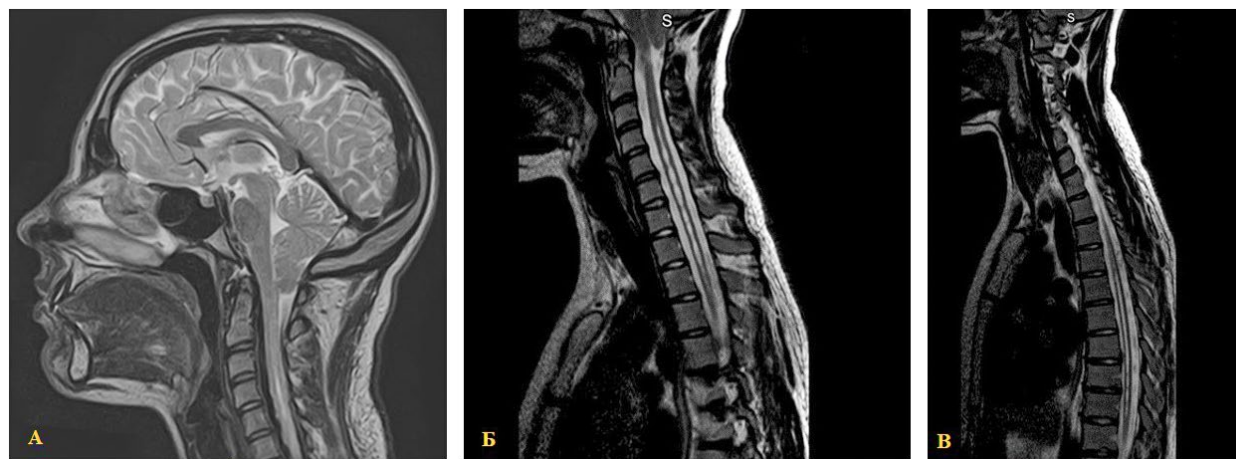


Рис. 2. Данные предоперационной МРТ ЦНС (режим Т2) А – головного мозга, Б – шейного отдела спинного мозга, В – грудного отдела спинного мозга.



Рис. 3. 3D-модель реконструкции костной декомпрессии по результатам послеоперационной СКТ головного мозга.



Рис. 4. Данные МРТ (режим Т2) головного мозга, шейного отдела спинного мозга на 3 сутки после операции.

и последующей ее пластики с использованием пластины искусственной твердой мозговой оболочки фирмы Medtronic. Арахноидальная мозговая оболочка не вскрывалась в связи с выполненными задачами оперативного вмешательства во избежание



Рис. 5. Данные МРТ (режим T2) головного мозга, шейного отдела спинного мозга на 23 сутки после операции.



Рис. 6. Данные МРТ (режим T1) головного мозга, шейного отдела спинного мозга через 3 месяца после операции.

дальнейшего формирования спаечного процесса.

В раннем послеоперационном периоде у пациента отмечали нарастание общемозговой симптоматики, появление выраженной мышечной слабости в верхних конечностях до 2 баллов и выраженной гипестезии в кистях рук. Выполнена контрольная МРТ ЦНС на 3-и сутки после операции. Для исключения потенциально обратимого состояния «presyrinx» было выполнено МРТ с использованием T1 и T2-взвешенных последовательностей [7]. Данные МРТ головного мозга и шейного отдела спинного мозга: гидроцефалии нет; сохраняется пролабирование миндалин мозжечка в хирургически расширенное большое затылочное отверстие на 18 мм ниже большого затылочного отверстия; отрицательная динамика сирингомиелии шейного отдела спинного мозга с расширением центрального канала спинного мозга до 14 мм (против 6 мм до операции) (рис. 4).

Учитывая отсутствие стандартной тактики лечения, в данном случае принято решение о консервативном ведении пациента. Назначен ацетазоламид в суточной дозе 250 мг. С двадцатых суток после операции отмечена положительная динамика неврологического статуса в виде нарастания мышечной силы до 5 баллов, полного регресса общемозгового синдрома и чувствительных нарушений.

Данные МРТ головного мозга и шейного отдела спинного мозга, выполненные на 23 сутки после операции, выявили положительную динамику заболевания: опущение миндалин мозжечка на 11 мм (против 18 мм на 3 сутки после операции); сирингомиелию шейного отдела спинного мозга от цереброспинального перехода и каудальнее с расширением центрального канала спинного мозга до 3 мм (против 14 мм на 3 сутки после операции) (рис. 5).

Клинически в позднем послеоперационном периоде полный регресс общемозгового синдрома и отсутствие очаговых проявлений.

На контрольной МРТ через 3 мес. после операции отмечена дальнейшая положительная динамика: опущение миндалин мозжечка на 8 мм (против 11 мм на 23 сутки после операции); сирингомиелия шейного отдела спинного мозга с расширением центрального канала спинного мозга до 2 мм (против 3 мм на 23 сутки после операции) (рис. 6).

ОБСУЖДЕНИЕ

Субокципитальная краниоэктомия, резекция заднего полукольца атланта с последующей пластикой

твёрдой мозговой оболочки без вскрытия арахноидальная мозговая оболочка представляет собой высокоэффективный метод лечения аномалии Киари I типа, ассоциированной с сирингомиелией. Однако данный метод не исключает осложнённое течение заболевания с дальнейшим прогрессированием сирингомиелии и усугублением неврологического дефицита, что затрудняет перед нейрохирургом выбор тактики лечения пациента.

В поисках ответа на вопрос о возможных механизмах прогрессии сирингомиелии после выполнения декомпрессивной операции «полного объёма» стоит обратиться к работе Aboulker J. (1979 г.), который предположил, что смещение миндалин мозжечка вниз вызывает стеноз субарахноидального пространства на уровне большого затылочного отверстия с возможным формированием сирингомиелии. После декомпрессии задней черепной ямки происходит дальнейшее смещение миндалин вниз за счёт ослабления «поддержки» мозжечка [6]. Это подтверждается и теорией Oldfield E. H. et al. (1994 г.) о пульсирующем усугублении дислокации миндалин мозжечка при каждом дыхательном цикле и сердечной систоле с последующим развитием динамической блокады путей ликвотока в области большого затылочного отверстия и усугублением сирингомиелии [8-10]. Ряд авторов, исследуя данный вопрос, выделили в качестве

основы персистирующего течения заболевания сирингомиелией у данной группы пациентов не всегда возникает из-за обструкции ликворных путей в области большого затылочного отверстия, либо операция не устранила обструкцию ликворопроводящих путей в области большого затылочного отверстия, что инициирует патофизиологический механизм прогрессирования сирингомиелии [11].

Основываясь на данных нашего наблюдения, выжидательная тактика ведения пациента, несмотря на прогрессирование сирингомиелии с усугублением неврологического дефицита после декомпрессии задней черепной ямки, позволила добиться благополучного отдалённого результата течения заболевания, связанного с аномалией Киари I типа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленный нами клинический случай демонстрирует, что пациенты после нейрохирургического лечения по поводу аномалии Киари I типа, ассоциированной с сирингомиелией, должны проходить тщательное клинико-инструментальное динамическое наблюдение на предмет потенциального прогрессирования сирингомиелии. В случае нарастания сирингомиелии и усугублении неврологической симптоматики в послеоперационном периоде допустимо консервативное ведение пациента.

Список источников

1. Tubbs RS, Beckman J, Naftel RP, Chern JJ, Wellons JC, Rozzelle CJ, et al. Institutional experience with 500 cases of surgically treated pediatric Chiari malformation Type I. *J Neurosurg Pediatr.* 2011 Mar;7(3):248–256. <https://doi.org/10.3171/2010.12.PEDS10379>
2. Langridge B, Phillips E, Choi D. Chiari Malformation Type 1: A Systematic Review of Natural History and Conservative Management. *World Neurosurg.* 2017 Aug;104:213–219. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2017.04.082>
3. Oldfield EH. Pathogenesis of Chiari I - Pathophysiology of Syringomyelia: Implications for Therapy: A Summary of 3 Decades of Clinical Research. *Neurosurgery.* 2017 Sep 1;64(CN_suppl_1):66–77. <https://doi.org/10.1093/neuros/nyx377>
4. Зуев А. А., Костенко Г. В. Дифференциальный подход к хирургическому лечению аномалии Киари 1 типа и сирингомиелии. *Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н. И. Пирогова* 2018;13(1):53–57.
5. Deora H, Behari S, Sardhara J, Singh S, Srivastava AK. Is Cervical Stabilization for All Cases of Chiari-I Malformation an Overkill? Evidence Speaks Louder Than Words! *Neurospine.* 2019 Jun;16(2):195–206. <https://doi.org/10.14245/ns.1938192.096>
6. Gil Z, Rao S, Constantini S. Expansion of Chiari I-associated syringomyelia after posterior-fossa decompression. *Childs Nerv Syst.* 2000 Sep;16(9):555–558. <https://doi.org/10.1007/s003810000329>
7. Chaouki Khoury. Chiari malformations [Internet]. UpToDate. 2003. Доступно по: <https://www.uptodate.com/contents/chiari-malformations>, Дата обращения: 03.07.2023.
8. Kular S, Cascella M. Chiari I Malformation. 2022 Feb 5. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. 2023 Jan.

9. Heiss JD, Patronas N, DeVroom HL, Shawker T, Ennis R, Kammerer W, et al. Elucidating the pathophysiology of syringomyelia. *J Neurosurg*. 1999 Oct;91(4):553–562. <https://doi.org/10.3171/jns.1999.91.4.0553>
10. Dzmity V, Irina T, Hanna V. The Arnold-Chiari Anomaly: A Review of Literature. *AJBSR*. 2022 Apr 20;16(1):66. <https://doi.org/10.34297/AJBSR.2022.16.002193>
11. Heiss JD, Suffredini G, Smith R, DeVroom HL, Patronas NJ, Butman JA, et al. Pathophysiology of persistent syringomyelia after decompressive craniocervical surgery. *Clinical article. J Neurosurg Spine*. 2010 Dec;13(6):729–742. <https://doi.org/10.3171/2010.6.SPINE10200>

Информация об авторах:

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

Кузнецова Наталья Сергеевна ✉ – врач-онколог, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2337-326X>, SPIN: 8553-3081, AuthorID: 920734, ResearcherID: AAG-8960-2020, Scopus Author ID: 57196005138

Маслов Андрей Александрович – д.м.н., профессор, главный врач, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7328-8074>, SPIN: 5963-5915, AuthorID: 817983

Хатюшин Владислав Евгеньевич – врач-нейрохирург, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1526-5197>, SPIN: 5719-9345, AuthorID: 1129641

Матевосян Борис Варосович – врач-нейрохирург, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7612-8754>

Резник Геннадий Александрович – врач-нейрохирург, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8914-3996>

Пандова Ольга Витальевна – врач-невролог, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2218-9345>

Шалашная Елена Владимировна – старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7742-4918>, SPIN: 2752-0907, AuthorID: 476958, ResearcherID: AAE-4085-2022, Scopus Author ID: 55144159900

Участие авторов:

Росторгуев Э. Е. – разработка дизайна исследования, интерпретация результатов, редактирование текста статьи;

Кузнецова Н. С. – разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, написание текста рукописи;

Маслов А. А. – редактирование текста статьи, анализ результатов;

Хатюшин В. Е. – обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных;

Матевосян Б. В. – обработка и анализ результатов;

Резник Г. А. – обзор публикаций по теме статьи;

Пандова О. В. – обзор публикаций по теме статьи;

Шалашная Е. В. – редактирование текста статьи.

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ ПАЦИЕНТКИ С ПЕРВИЧНО-МНОЖЕСТВЕННЫМИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ, ВКЛЮЧАЮЩИМИ ПЕРВИЧНО-МНОЖЕСТВЕННУЮ МЕЛАНОМУ

Ю. А. Геворкян, Н. В. Солдаткина[✉], О. К. Бондаренко, И. Н. Мироненко,
В. Е. Колесников, А. В. Дашков

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

✉ snv-rnoi@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

В последнее время отмечается увеличение числа пациентов с первично-множественными злокачественными опухолями, которые не только поражают один или несколько органов, но и отличаются между собой по гистологической структуре. При этом среди первичных злокачественных новообразований редкой локализацией является меланома кожи. Данная нозология составляет всего 3–5 % от всех опухолей кожи. Меланома связана с высокой смертностью из-за развития выраженного метастатического потенциала, в связи с чем изучение данного злокачественного образования представляет наибольшую актуальность. За последние 50 лет встречаемость первично-множественной меланомы значительно возросла. При этом количество пациентов, имеющих более 2 очагов, возросло до 18 % от числа первично-множественных меланом в течение последних 50 лет. Это подчеркивает важность наблюдения пациентов с меланомой и регулярных осмотров больных на предмет возникновения новых очагов. В данной статье продемонстрирован клинический случай пациентки с установленным диагнозом первично-множественного заболевания с поражением меланомой кожи и прямой кишки. По поводу меланомы кожи пациентке было выполнено широкое иссечение опухоли с пахово-бедренной лимфодиссекцией справа. В последующем проводилась лучевая терапия и химиотерапия. В последующем при комплексном обследовании больной был установлен диагноз злокачественного новообразования нижне-ампулярного отдела прямой кишки с переходом на анальный канал. Пациентке была выполнена лапароскопически-ассистированная брюшно-промежностная экстирпация прямой кишки. По данным гистологического анализа выявлена узловатая меланома. Из анамнеза больной среди сопутствующих заболеваний также были выявлены рак молочной железы, миома матки, гемангиома печени, гамартома легкого. Клиническое течение всех злокачественных опухолей было благоприятным, без развития рецидивов и метастазов. Наибольший интерес в данной ситуации представляет первично-множественная меланома в связи с успешным лечением при наиболее неблагоприятном прогнозе. Описанное клиническое наблюдение свидетельствует о необходимости углубленного изучения случаев первично-множественных злокачественных опухолей и поиска механизмов благоприятного течения при этом злокачественных новообразований.

Ключевые слова: первично-множественные злокачественные опухоли, первично-множественная меланома, меланома кожи

Для цитирования: Геворкян Ю. А., Солдаткина Н. В., Бондаренко О. К., Мироненко И. Н., Колесников В. Е., Дашков А. В. Клиническое наблюдение пациентки с первично-множественными злокачественными опухолями, включающими первично-множественную меланому. Южно-Российский онкологический журнал. 2023; 4(3):51-55. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-3-6>, <https://elibrary.ru/plgcll>

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, предьявляемые 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 19.01.2023; одобрена после рецензирования 05.07.2023; принята к публикации 14.09.2023.

© Геворкян Ю. А., Солдаткина Н. В., Бондаренко О. К., Мироненко И. Н., Колесников В. Е., Дашков А. В., 2023

CLINICAL OBSERVATION OF PATIENTS WITH PRIMARY MULTIPLE MALIGNANT TUMORS, INCLUDING PRIMARY MULTIPLE MELANOMA

Yu. A. Gevorkyan, N. V. Soldatkina✉, O. K. Bondarenko, I. N. Mironenko, V. E. Kolesnikov, A. V. Dashkov

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

ABSTRACT

Recently, there has been an increase in the number of patients with primary multiple malignant tumors, which not only affect one or more organs, but also differ in their histological structure. At the same time, melanoma of the skin is a rare localization among primary malignant neoplasms. This nosology accounts for only 3–5 % of all skin tumors. Melanoma is associated with high mortality due to the development of a pronounced metastatic potential, and therefore the study of this malignant formation is of the greatest relevance. Over the past 50 years, the incidence of multiple primary melanoma has increased significantly. At the same time, the number of patients with more than 2 lesions has increased to 18 % of the number of primary multiple melanomas over the past 50 years. This emphasizes the importance of monitoring patients with melanoma and regularly examining patients for new lesions. This article demonstrates a clinical case of a patient with a confirmed diagnosis of a primary multiple disease with melanoma of the skin and rectum. For skin melanoma, the patient underwent a wide excision of the tumor with inguinal-femoral lymph node dissection on the right. Subsequently, radiation therapy and chemotherapy were performed. Further, during a comprehensive examination, the patient was diagnosed with a malignant neoplasm of the lower ampullar rectum with a transition to the anal canal. The patient underwent laparoscopic-assisted abdominoperineal extirpation of the rectum. Histological analysis revealed nodular melanoma. From the anamnesis of the patient, among the comorbidities, breast cancer, uterine myoma, hemangioma of the liver and lung hamartoma were also identified. The clinical course of all malignant tumors was favorable, without the development of relapses and metastases. The greatest interest in this situation is the primary multiple melanoma in connection with successful treatment with the most unfavorable prognosis. The described clinical observation indicates the need for an in-depth study of cases of primary multiple malignant tumors and the search for mechanisms for a favorable course of malignant neoplasms in this case.

Keywords: primary multiple malignant tumors, primary multiple melanoma, melanoma of the skin

For citation: Gevorkyan Yu. A., Soldatkina N. V., Bondarenko O. K., Mironenko I. N., Kolesnikov V. E., Dashkov A. V. Clinical observation of patients with primary multiple malignant tumors, including primary multiple melanoma. South Russian Journal of Cancer. 2023; 4(3):51-55
<https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-3-6>, <https://elibrary.ru/plgcll>

For correspondence: Natalya V. Soldatkina – Dr. Sci. (Med.), leading researcher at the department of general oncology, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation.
Address: 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation
E-mail: snv-rnioi@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 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 19.01.2023; approved after reviewing 05.07.2023; accepted for publication 14.09.2023.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время отмечается увеличение числа пациентов с первично-множественными злокачественными опухолями, имеющими разную гистологическую структуру и поражающими один или несколько органов. Наиболее распространены случаи двух первичных злокачественных новообразований, тогда как случаи большей множественности злокачественных опухолей составляют менее 0,5 % [1-3].

При этом среди первичных злокачественных опухолей редкой локализацией является меланوما кожи, которая составляет всего 3-5 % от всех опухолей кожи, но актуальность этого заболевания обусловлена высокой смертностью из-за выраженного метастатического потенциала [4].

Под первично множественной меланомой понимают возникновение у одного пациента двух и более отдельных меланом. За последние 50 лет встречаемость первично множественной меланомы значительно возросла (в 1960-х г. ее показатель составлял менее 1 % среди мужчин и женщин; в 2000-х г. – 6,4 % среди женщин и 7,9 % среди мужчин). Количество пациентов, имеющих более 2 очагов за последние 50 лет возросло до 18 % от числа первично множественных меланом [5].

По данным исследования Menzies S et al. (2017) 4,8 % всех меланом являются первично множественными, а средний период между обнаружением первого и второго очага составляет 33,7 мес. При этом у 70 % пациентов второй очаг диагностируется в сроки около 2 лет после обнаружения первого [6]. Это подчеркивает важность наблюдения пациентов с меланомой и регулярных осмотров на предмет возникновения новых очагов. Среди наиболее частых локализаций авторы отмечают поражение нижней губы. Значительной разницы в возрасте пациентов с солитарными и множественными меланомами обнаружено не было. По данным других авторов первично множественными являются 1–8 % всех меланом [7]. Около 6–12 % всех меланом являются семейными, и 12 % среди семейных меланом являются первично множественными [8]. К факторам риска наследственной и первично множественной форм относят мутации генов breast cancer 1 (BRCA1), BRCA1-associated protein 1 (BAP1), CDKN2A и telomerase reverse transcriptase (TERT) [9-10]. Несмотря на имеющиеся сведения по поводу меланомы, значительных данных по ведению пациентов с первично множественной меланомой на сегодняшний день нет.

Цель исследования: улучшение диагностики и результатов лечения первично-множественных злокачественных новообразований путем применения тщательного динамического наблюдения за онкологическими пациентами.

Описание клинического случая

В связи с вышеизложенным, интерес представляет следующее клиническое наблюдение.

Больная С., 64 лет, в сентябре 2021 г. обратилась за медицинской помощью в ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России с жалобами на примесь крови и слизи в кале, боли при дефекации, общую слабость в течение 3 месяцев. По месту жительства больной была выполнена фиброколоноскопия, при которой выявлена опухоль анального канала, взята биопсия. По результатам гистологического исследования биоптата – G2 плоскоклеточная карцинома.

Из анамнеза известно, что в 1990 г. больная получала лечение по поводу меланомы кожи правого бедра (стадия заболевания не известна в связи с утерей выписных документов). Пациентке было выполнено широкое иссечение опухоли с пахово-бедренной лимфодиссекцией справа, проведена лучевая терапия, химиотерапия. В 1991 г. по поводу второй стадии рака правой молочной железы (pT2N0M0) пациентке проведено комбинированное лечение, включающее дистанционную гамматерапию и радикальную мастэктомию. В 2001 г. по поводу миомы матки больной была выполнена надвлагалищная ампутация матки с придатками.

У ближайших родственников пациентки онкологических заболеваний нет.

В ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России проведено дообследование больной. Выполнен пересмотр гистопрепаратов и ИГХ № 11832-33/21: в биоптатах опухоли прямой кишки морфологическая картина и иммунофенотип опухолевых клеток (S-100+, Vimentin +, раnCK-) соответствуют пигментной меланоме.

При спиральной компьютерной томографии (СРКТ) органов грудной клетки и брюшной полости выявлено очаговое образование средней доли правого лёгкого опухолевого генеза и гемангиома правой доли печени.

При магнитно-резонансной томографии (МРТ) органов малого таза на 25 мм от анодермального перехода в анальном канале и по продолжению в ниже-ампулярном отделе определяется полукруглая опухоль, вовлекающая слизистый

и подслизистый слой без признаков поражения мышечного субсерозного и серозного слоев с экзофитным ростом и сужением прямой кишки до 2/3 ее просвета. МР-признаков экстрамурального роста, инвазии в мезоректальную клетчатку, мтс поражения лимфатических коллекторов в клетчатках малого таза и забрюшинного пространства не обнаружено.

По результатам комплексного обследования пациентке был установлен диагноз ЗНО нижнеампулярного отдела прямой кишки с переходом на анальный канал Т3N0M0, ст. II, клиническая группа 2.

13.09.2021 г. выполнена лапароскопически-ассистированная брюшно-промежностная экстир-

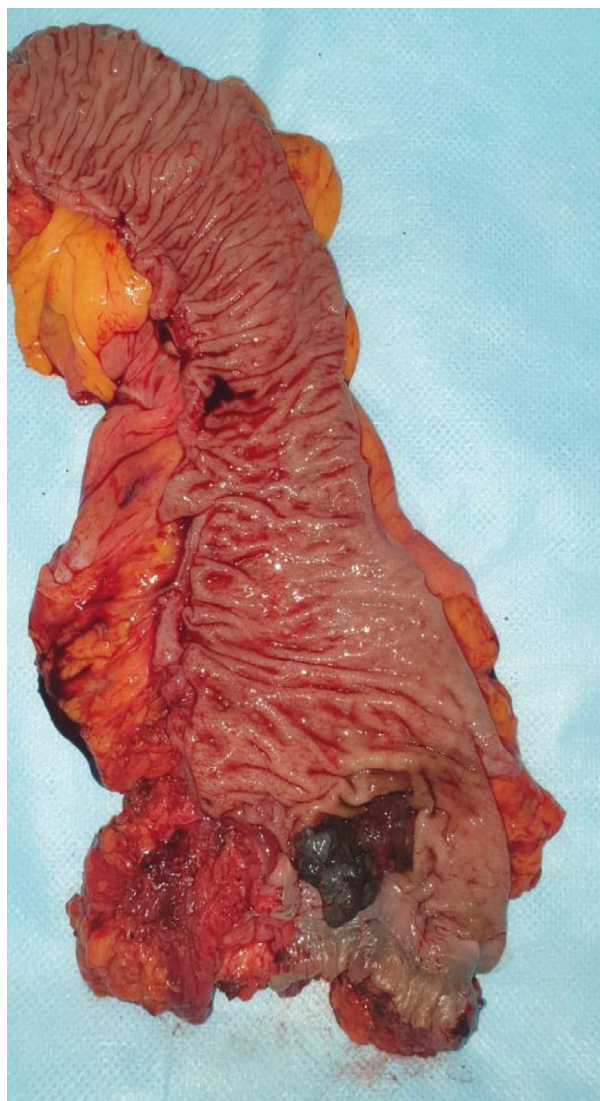


Рис. 1. Послеоперационный препарат с меланомой прямой кишки.

пация прямой кишки. Послеоперационный препарат представлен на рисунке 1.

Послеоперационное патоморфологическое исследование № 98743-60/21: узловая меланома нижнеампулярного отдела прямой кишки с переходом на анальный канал, с изъязвлением, веретеноклеточного и эпителиоидноклеточного варианта строения, с большим содержанием неравномерно распределенного пигмента коричневого цвета, с выраженной лимфоцитарной инфильтрацией по периферии опухоли, с инвазией до мышечной оболочки, толщиной по Бреслоу 7 мм. В 2 лимфатических узлах синусовый гистиоцитоз; 10 фрагментов представлены жировой клетчаткой с расширенными полнокровными кровеносными сосудами. По линиям резекции признаков опухолевого роста не выявлено.

При исследовании ДНК мутации V600 в 15 экзоне гена BRAF не обнаружено.

Послеоперационный период протекал без осложнений.

27.10.2021 г. выполнена видеоторакоскопическая атипичная резекция средней доли правого легкого. Послеоперационное патоморфологическое исследование № 118321-23/21: морфологическая картина легочной (хондороматозной) гамартомы.

При дальнейшем наблюдении и контрольном обследовании каждые 3 месяца данных за прогрессирование заболевания не выявлено.

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, у одной пациентки наблюдалось шесть локализаций опухолей: три из них доброкачественные (миома матки, гемангиома печени, гамартома легкого) и три злокачественные (меланома кожи, рак молочной железы, меланома прямой кишки). Клиническое течение всех злокачественных опухолей было благоприятным, без развития рецидивов и метастазов. Наибольший интерес в этом наблюдении представляет первично-множественная меланома в связи с успешным лечением при наиболее неблагоприятном прогнозе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Описанное клиническое наблюдение свидетельствует о необходимости углубленного изучения случаев первично-множественных злокачественных опухолей и поиска механизмов благоприятного течения при этом злокачественных новообразований.

Список источников

1. Солдаткина Н. В., Кит О. И., Геворкян Ю. А., Милакин А. Г. Первично-множественный колоректальный рак: клинические аспекты. Терапевтический архив. 2016;88(8):53–58. <https://doi.org/10.17116/terarkh20168853-58>, EDN: WKGCEF
2. Кит О. И., Геворкян Ю. А., Солдаткина Н. В., Харагезов Д. А., Колесников В. Е., Милакин А. Г. Первично-множественный колоректальный рак: возможности мининвазивных оперативных вмешательств. Колопроктология. 2017;(1):38–42. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2017-0-1-38-42>, EDN: XVGRMP
3. Ilcheva M, Nikolova P, Hadzhiyska V, Mladenov K. Impact of FDG PET/CT on detection of synchronous and metachronous malignancies and clinical management in patients with multiple primary cancers. Neoplasma. 2022 Jul;69(4):948–956. https://doi.org/10.4149/neo_2022_220203N135
4. Van Geel AN, den Bakker MA, Kirkels W, Horenblas S, Kroon BBR, de Wilt JHW, et al. Prognosis of primary mucosal penile melanoma: a series of 19 Dutch patients and 47 patients from the literature. Urology. 2007 Jul;70(1):143–147. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2007.03.039>
5. Helgadottir H, Isaksson K, Fritz I, Ingvar C, Lapins J, Höiom V, et al. Multiple Primary Melanoma Incidence Trends Over Five Decades: A Nationwide Population-Based Study. J Natl Cancer Inst. 2021 Mar 1;113(3):318–328. <https://doi.org/10.1093/jnci/djaa088>
6. Menzies S, Barry R, Ormond P. Multiple primary melanoma: a single centre retrospective review. Melanoma Res. 2017 Dec;27(6):638–640. <https://doi.org/10.1097/CMR.0000000000000395>
7. Rastrelli M, Tropea S, Rossi CR, Alaibac M. Melanoma: epidemiology, risk factors, pathogenesis, diagnosis and classification. In Vivo. 2014;28(6):1005–1011.
8. Conrad N, Leis P, Orenge I, Medrano EE, Hayes TG, Baer S, et al. Multiple primary melanoma. Dermatol Surg. 1999 Jul;25(7):576–581. <https://doi.org/10.1046/j.1524-4725.1999.98050.x>
9. DE Simone P, Valiante M, Silipo V. Familial melanoma and multiple primary melanoma. G Ital Dermatol Venereol. 2017 Jun;152(3):262–265. <https://doi.org/10.23736/S0392-0488.17.05554-7>
10. Soura E, Eliades PJ, Shannon K, Stratigos AJ, Tsao H. Hereditary melanoma: Update on syndromes and management: Genetics of familial atypical multiple mole melanoma syndrome. J Am Acad Dermatol. 2016 Mar;74(3):395–407. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2015.08.038>

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

Мироненко Ирина Николаевна – ординатор, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2879-467X>

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

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

Участие авторов:

Геворкян Ю. А. – научное редактирование, концепция и дизайн исследования;
Солдаткина Н. В. – научное редактирование, подготовка, концепция и дизайн исследования;
Бондаренко О. К. – сбор, анализ и интерпретация данных, обработка материала;
Мироненко И. Н. – оформление текста;
Колесников В. Е. – сбор, анализ и интерпретация данных;
Дашков А. В. – обработка материала.

ИММУНОТЕРАПИЯ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ ВИЛОЧКОВОЙ ЖЕЛЕЗЫ

О. И. Кит, Д. А. Харагезов, Ю. Н. Лазутин, Э. А. Мирзоян[✉], А. Г. Милакин, О. Н. Статешный,
Т. Г. Айрапетова, И. А. Лейман, М. А. Гаппоева, В. Н. Витковская, К. Д. Иозефи, М. А. Хомидов

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

✉ ellada.mirzoyan@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Тимомы и карциномы вилочковой железы, также известные как эпителиальные опухоли тимуса (ОТ), являются редкими злокачественными новообразованиями, но также наиболее частыми солидными опухолями переднего средостения. Заболеваемость не превышает 1,3–1,7 на миллион жителей в год. В Европе ежегодно регистрируется около 1500 новых случаев, а средний возраст заболевших составляет от 40 до 50 лет.

Происходя из эпителиального компонента тимуса – первичного лимфоидного органа, они из-за своей уникальной биологии сопровождаются высоким риском развития аутоиммунных расстройств. Действительно, до 30 % больных ОТ страдают аутоиммунными расстройствами (АИР), наиболее частым из которых является миастения гравис (МГ). АИР выявляются не только при диагностике опухоли, но и во время последующего наблюдения. За редким исключением в ОТ отсутствуют специфические мишени для таргетной терапии. Ингибиторы иммунных контрольных точек (ИИКТ) подавляют способность опухолевых клеток уклоняться от иммунного надзора, усиливая их киллинг. Беспрецедентные достижения иммунотерапии (ИТ) в лечении метастатического немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) и меланомы сделали обоснованным изучение эффективности назначения ИИКТ пациентам с ОТ. Распространенность АИР при разных морфологических подтипах ОТ может повлиять на решение о проведении ИТ из-за повышенного риска токсичности. В обзоре обобщены современные данные об эффективности ИТ при тимоме и раке тимуса (РТ) и обсуждаются несколько нерешенных проблем, связанных с использованием ИИКТ при ОТ.

Цель данного обзора – представить современные данные по обсуждаемому вопросу и возможные прогностические биомаркеры для ИТ и осветить проблемы, связанные с аутоиммунными расстройствами (АИР).

По нашему мнению, глубокое понимание молекулярно-генетического и иммунного ландшафта эпителиальных опухолей вилочковой железы и взаимодействия ИИКТ с иммунной системой является ключом к повышению эффективности и предотвращению побочного аутоиммунного действия ИТ. Всестороннее решение существующих проблем, несомненно, позволит открыть новые возможности лекарственного лечения этого редкого и трудного заболевания.

Ключевые слова: эпителиальные опухоли тимуса (ОТ), тимомы, рак тимуса (РТ), ингибиторы иммунных контрольных точек (ИИКТ), аутоиммунные расстройства (АИР), токсичность иммунотерапии (ИТ)

Для цитирования: Кит О. И., Харагезов Д. А., Лазутин Ю. Н., Мирзоян Э. А., Милакин А. Г., Статешный О. Н., Айрапетова Т. Г., Лейман И. А., Гаппоева М. А., Витковская В. Н., Иозефи К. Д., Хомидов М. А. Иммуноterapia эпителиальных опухолей вилочковой железы. Южно-Российский онкологический журнал. 2023; 4(3):56-67. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-3-7>, <https://elibrary.ru/txuman>

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

Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 53

E-mail: ellada.mirzoyan@yandex.ru

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

SPIN: 2506-8605, AuthorID: 1002948

ResearcherID: AAZ-2780-2021

Scopus Author ID: 57221118516

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось.

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

Статья поступила в редакцию 04.10.2022; одобрена после рецензирования 05.07.2023; принята к публикации 14.09.2023.

© Кит О. И., Харагезов Д. А., Лазутин Ю. Н., Мирзоян Э. А., Милакин А. Г., Статешный О. Н., Айрапетова Т. Г., Лейман И. А., Гаппоева М. А., Витковская В. Н., Иозефи К. Д., Хомидов М. А., 2023

IMMUNOTHERAPY FOR EPITHELIAL TUMORS OF THE THYMUS

O. I. Kit, D. A. Kharagezov, Yu. N. Lazutin, E. A. Mirzoyan[✉], A. G. Milakin, O. N. Stateshny, T. G. Ayrapetova, I. A. Leyman, M. A. Gappoeva, V. N. Vitkovskaya, K. D. Iozefi, M. A. Khomidov

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

✉ ellada.mirzoyan@yandex.ru

ABSTRACT

Thymomas and carcinomas of the thymus gland, also known as epithelial tumors of the thymus (TT) are rare malignant neoplasms, but are the most common solid tumors of the anterior mediastinum. The incidence does not exceed 1.3–1.7 per million inhabitants per year. In Europe, about 1,500 new cases are registered annually, and the average age of patients is around 40–50 years.

Originating from the epithelial component of the thymus, the primary lymphoid organ, they are accompanied by a high risk of developing autoimmune disorders due to their unique biology. Indeed, up to 30 % of TETS patients suffer from autoimmune disorders (AID), the most common of which is myasthenia gravis (MG). AID are detected not only during the diagnosis of a tumor, but also during follow-up. With rare exceptions, there are no specific targets for targeted therapy in TETS. Immune checkpoint inhibitors (ICIs) halt the ability of tumor cells to evade immune surveillance, enhancing their killing. Unprecedented achievements of immunotherapy (IT) in the treatment of metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC) and melanoma have made it reasonable to study the effectiveness of prescribing ICI in patients with TETS. The prevalence of AID in different morphological subtypes of TETS may influence the decision to conduct IT due to the increased risk of toxicity. The review summarizes current data on the effectiveness of IT in thymoma and thymus cancer (TC) and discusses several unresolved problems associated with the use of ICI in TETS.

The purpose of this review is to present up-to-date data on the issue under discussion and possible prognostic biomarkers for IT, and to highlight the problems associated with autoimmune disorders (AID).

In our opinion, a deep understanding of the molecular genetic and immune landscape of thymus epithelial tumors and the interaction of ICI with the immune system is the key to improving the effectiveness and preventing the side effects of autoimmune IT. A comprehensive solution to existing problems will undoubtedly open up new possibilities for the drug treatment of this rare and difficult disease.

Keywords: thymus epithelial tumors (TETS), thymoma, thymic carcinomas (TC), immune checkpoint inhibitors (ICIs), autoimmune disorders (AID), immunotherapy (IT) toxicity

For citation: Kit O. I., Kharagezov D. A., Lazutin Yu. N., Mirzoyan E. A., Milakin A. G., Stateshny O. N., Ayrapetova T. G., Leyman I. A., Gappoeva M. A., Vitkovskaya V. N., Iozefi K. D., Khomidov M. A. Immunotherapy for epithelial tumors of the thymus. South Russian Journal of Cancer. 2023; 4(3):56-67. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-3-7>, <https://elibrary.ru/txuman>

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

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

E-mail: ellada.mirzoyan@yandex.ru

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

SPIN: 2506-8605, AuthorID: 1002948

ResearcherID: AAZ-2780-2021

Scopus Author ID: 57221118516

Funding: this work was not funded.

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

The article was submitted 04.10.2022; approved after reviewing 05.07.2023; accepted for publication 14.09.2023.

ВВЕДЕНИЕ

Эпителиальные опухоли тимуса (ОТ) являются редкими и потенциально агрессивными злокачественными новообразованиями переднего средостения. Заболеваемость не превышает 1,3–1,7 на миллион жителей в год; в Европе ежегодно регистрируется около 1500 новых случаев, а средний возраст заболевших составляет от 40 до 50 лет [1]. На основе морфологического строения, а именно доли двух компонентов вилочковой железы – незрелых лимфоцитов и эпителиальных клеток, – классификация ВОЗ различает два типа эпителиальных опухолей: тимому и рак тимуса; и шесть основных морфологических подтипов: тимомы А, АВ, В1, В2, В3 и РТ [2]. Эпителиальный компонент – единственный, в котором развивается злокачественная опухоль. На консенсусном совещании ITMIG (International Thymic Malignancy Interest Group) в 2011 г. классификация ВОЗ утверждена в качестве стандарта для клинической практики [3]. Менее распространенный, чем тимома, рак вилочковой железы составляет примерно 10–15 % ОТ и в значительной степени ассоциируется с развитием отдаленных метастазов и плохим прогнозом. Наиболее часто РТ представлен плоскоклеточной карциномой. Опухолевые клетки карцином тимуса экспрессируют кластерные детерминанты CD5+ и CD117/KIT+, определяемые с помощью иммуногистохимического исследования (ИГХИ), имеют специфические молекулярные особенности, отличающие их от тимомы и плоскоклеточного рака легкого [4].

Клиническое течение ОТ определяется характером роста новообразования. Инкапсулированные опухоли, соответствующие I стадии согласно хирургической классификации Masaoka-Koga (M-K), составляют 65 %, тогда как инвазивные опухоли II–IV стадии – 35 % случаев [5; 6]. Хирургическое вмешательство – ключевой этап лечения ОТ I, II и даже III стадии, поскольку радикальное удаление опухоли, наряду со стадией [5; 6] и морфологическим строением [3], представляет собой наиболее важный с точки зрения выживаемости независимый прогностический фактор [6–8]. Рецидив опухоли в зависимости от стадии заболевания следует ожидать у 8–33 % больных тимомой и у 25–59 % пациентов с РТ [9]. Режимы комбинированной химиотерапии (ХТ) на основе препаратов платины остаются стандартным методом лечения неопера-

бельных, рефрактерных и метастатических форм заболевания. Возможности современной ХТ, как известно, ограничены, при этом частота ответов колеблется от 69 % при тимоме до 42 % при РТ [9; 10]. Кроме того, продемонстрирована некоторая эффективность таргетных препаратов из группы ингибиторов тирозин-киназы, таких как сунитиниб [11] и эверолимус [12]. Реже в качестве мишеней используются гены c-KIT и PI3KCA, а также эпигенетические сигнальные пути [13]. Ожидаемая 5-летняя общая выживаемость (ОВ) для тимомы составляет 80 %, а для РТ – 40 % [14].

ИИКТ изменили парадигму лечения рака, став стандартным методом лечения меланомы, НМРЛ и рака мочевого пузыря [15]. Роль иммунотерапии (ИТ) в лечении ОТ окончательно не изучена, прежде всего из-за высокой частоты аутоиммунных состояний, приводящих к высокому риску токсичности.

Цель данного обзора: представить современные данные по обсуждаемому вопросу и возможные прогностические биомаркеры для ИТ и осветить проблемы, связанные с аутоиммунными расстройствами (АИР).

Физиология тимуса и онкогенез

Вилочковая железа является центральным органом иммунной системы, обеспечивающим развитие иммунной толерантности. После образования в костном мозге незрелые тимоциты созревают в тимусе в результате взаимодействия между корковыми и медуллярными эпителиальными клетками вилочковой железы. Презентация ткане-специфичных аутоантигенов через основной комплекс гистосовместимости II класса (МНС-II) регулируется двумя транскрипционными факторами – генами AIRE (autoimmune regulator) и Fez (Fez family zinc finger 2) [16]. Прохождение Т-timoцитов через кору тимуса и кортико-медуллярное соединение подразумевает фенотипические модификации, влияющие на функционирование Т-лимфоцитов. Незрелые Т-лимфоциты, реагирующие с МНС-II, способны проникать в мозговое вещество тимуса, тогда как невзаимодействующие Т-клетки элиминируются. В мозговом веществе вилочковой железы обнаруживаются как дендритные клетки, так и медуллярные эпителиальные клетки. Медуллярные эпителиальные клетки, экспрессирующие AIRE, претерпевают различные изменения и подвергаются апоптозу, высвобождая ткане-специфичные аутоантигены для дендритных клеток тимуса. Т-лим-

фоциты, реагирующие против ткане-специфичных аутоантигенов, подвергаются апоптозу, обеспечивая иммунную толерантность [16]. Данный процесс протекает в основном в детском возрасте, но иногда присутствует у взрослых и, вероятно, дальше переходит в процесс канцерогенеза [4].

Аутоиммунные расстройства и ОТ

Аутоиммунные расстройства (АИР) необходимо дифференцировать от паранеопластических синдромов. Их патофизиология, клиническое течение и влияние на выживаемость различны. Паранеопластические синдромы, как правило, возникают в результате выработки опухолевыми клетками гормонов, цитокинов или пептидов, что приводит к метаболическим нарушениям и индукции аутоантител, продуцируемых опухолевыми клетками. Таким образом, успешное лечение опухоли должно ликвидировать клинические проявления паранеопластических синдромов независимо от того, смогут ли прекратиться АИР из-за нарушения регуляции функции вилочковой железы и несовершенной селекции незрелых Т-лимфоцитов.

АИР присутствуют более чем в 30 % наблюдений ОТ [16]. Наиболее распространенным синдромом является миастения гравис (МГ), частота которой колеблется от 17 % при тимоме А до 71 % при тимоме В2 [7]. Кроме того, регистрируются эндокринные, ревматологические, желудочно-кишечные, почечные, кожные поражения [17]. Данные RYTHMIC (Réseau tumeurs THYMIques et Cancer), одного из крупнейших реестров ОТ в Европе, демонстрируют 20,2 % распространенность АИР с наличием более одного расстройства у 3,8 % больных. У большинства пациентов наблюдалась МГ – 69,6 %, за ней следовали: синдром Гуда – 5,6 %, системная красная волчанка – 4,4 %, тиреоидит – 3,4 % и чистая эритроцитарная аплазия – 2,8 %. Что касается морфологических подтипов, то распространенность АИР более 40 % установлена при тимоме В2-45 % и В3-41 % [18]. Тимомы АВ, В1 и В2 богаты агломератами лимфоцитов, что объясняет их более частую взаимосвязь с АИР по сравнению с тимомой В3 и РТ. Тем не менее, в нескольких исследованиях описана высокая распространенность аутоиммунных состояний при тимоме В3 [7; 18]. Важно отметить, что РТ редко ассоциируются с АИР [19]; сообщается об отсутствии МГ при карциноме вилочковой железы [20], возможно, из-за присутствия незрелых Т-клеток. Высокая распространенность АИР при

ОТ и появление аутоиммунных симптомов после постановки диагноза [18] требует чрезвычайно тщательного мониторинга состояния больных при проведении ИТ.

Молекулярные особенности ОТ и АИР

Уникальная биология опухолей вилочковой железы придает особый интерес к изучению аутоиммунных процессов из-за сильной связи с АИР, особенно с МГ. На самом деле, знания о молекулярных характеристиках МГ, связанной с тимомой, ограничены. Хорошо известно, что антитела против ацетилхолинового рецептора (АхР) обязательны для развития МГ, анти-АхР способны блокировать постсинаптическую мембрану, а также уменьшать количество АхР в нервно-мышечном соединении, что, в свою очередь, приводит к снижению реакции на ацетилхолин, клинически проявляющейся приступообразной слабостью и усталостью скелетных мышц [21].

В нескольких исследованиях изучалось, экспрессируются ли различные субъединицы ацетилхолина в тимусе, и связаны ли некоторые из них с развитием МГ, ассоциированной с тимомой. Низкие уровни экспрессии AIRE (autoimmune regulator) и АхР опухолевыми клетками соотносятся с более высоким риском развития МГ [22]. Более того, относительные уровни экспрессии РНК Foxp3 (forkhead box P3), оказались значительно выше в образцах опухолевой ткани больных без АИР по сравнению с пациентами, страдающими МГ и/или другими АИР. Следует отметить, что AIRE и Foxp3 являются факторами транскрипции, играющими важную роль в дифференцировке T-reg лимфоцитов, которые играют важную роль в подавлении иммунитета, способствуя росту опухоли [23]. Интересно, что АИР могут быть связаны со специфическими геномными изменениями, например, разбалансировкой сигнального пути NF-κB/AIRE, наблюдаемой при МГ, ассоциированной с тимомой [23].

Одно из крупнейших молекулярных исследований ОТ проведено в рамках TCGA (The Cancer Genome Atlas). Анализ 117 ОТ выявил более высокую частоту анеуплоидии в тимоме больных с МГ [13]. Кроме того, уровни экспрессии α-субъединицы АхР (CHRNA1 – neuronal acetylcholine receptor subunit alpha-1) оказались выше в образцах тимом пациентов, страдающих МГ. Нейрофиламент среднего размера (NEFM – neurofilament medium chain) – белок, обладающий сходными иммуноген-

ными свойствами с CHRNA1 и титином, – в основном, сверхэкспрессирован в подгруппах тимом А и АВ, сопровождающихся МГ. Что касается РТ, то в них, несмотря на более агрессивное биологическое поведение, обнаружено несколько опухолевых генов-супрессоров: CYLD, CBFB, CDH1, CDH11, CTCF и ZFNХ3, а также более высокая мутационная нагрузка опухоли (ТМВ) по сравнению с тимомами [13]. Представленные результаты подтверждают выводы о том, что РТ и тимомы различаются своими генетическим и эпигенетическим профилями. Действительно, результаты грандиозного транскриптомного анализа 2560 генов в 194 образцах ОТ обнаружили два разных кластера генов, отличающих РТ от тимомы [24].

В китайском исследовании 105 больных, страдающих МГ, обнаружено усиление воспалительных ответов в отличие от пациентов без АИР. Следует отметить, что у последних существенно чаще выявлялась мутация гена GTF2I [25]. На самом деле, наличие мутации GTF2I коррелирует с лучшими показателями выживаемости и, возможно, её носители могут стать кандидатами для ИТ. Мутация GTF2I обнаружена в 82 % тимом А и 74 % тимом АВ, но редко в агрессивных подтипах, тем более в РТ, в которых выявлены повторяющиеся мутации известных генов злокачественных опухолей, включая TP53, CYLD, CDKN2A, BAP1 и PBRM1 [13]. Вместе с тем экспрессия гена GTF2I, что весьма важно, ассоциируется с тяжелой токсичностью при ИТ, поэтому очевидна необходимость дальнейший изучения GTF2I в качестве биомаркера [26].

Наконец, для дифференциации тимомы от рака вилочковой железы и для понимания патогенеза МГ, изучены ещё несколько других биомаркеров: IGFBP1, KLF15, PDK4 и HIF3A. Другие АИР, такие как энцефалит или полимиозит, коррелируют с усилением анти-Ну антител, Ма2 антител и CRP5 антител или нарушением регуляции рецептора Т-клеток (TCR) и усилением экспрессии МНС-I в мышечных волокнах, но ландшафт АИР и МГ по-прежнему неизвестен [27].

Стратегия иммунотерапии ОТ

В последние годы ИИКТ произвели революцию в стратегии лечения и прогнозе нескольких солидных опухолей. У ранее леченых больных назначение ИИКТ дало 5-летнюю общую выживаемость равную 34 % при прогрессирующей меланоме, 28 % – при почечно-клеточном раке и 16 % – при

НМРЛ [15], что привело к одобрению ингибиторов анти-PD1 (anti-Programmed cell Death protein 1), ингибиторов анти-PDL1 (anti-Programmed Death Ligand 1) и ингибиторов anti-CTLA4 (anti-Cytotoxic T Lymphocyte Antigen 4) для ИТ метастатических форм заболевания. Учитывая пролонгированное действие ИИКТ при многих солидных опухолях на ИТ эпителиальных опухолей вилочковой железы, возлагаются большие надежды [4].

Связанные с иммунитетом прогностические биомаркеры

Несколько биомаркеров протестированы в качестве предикторов эффективности ИТ, тем не менее, только два одобрены в качестве биомаркеров ответа на назначение ИИКТ: I) экспрессия PD-L1 в опухолевых клетках и II) мутационная нагрузка опухоли (ТМВ), которая определяется количеством несинонимичных однонуклеотидных вариантов в области кодирования генома опухоли. Опухоли с высоким ТМВ содержат больше неоантигенов, усиливающих иммунный ответ, что приводит к повышению эффективности ИТ, как это показано в предыдущих исследованиях. Кроме того, для активации иммунной системы требуется высокое содержание инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (TILs) для достижения лучшего ответа на лечение [28].

Экспрессия PD-L1 наблюдается более чем в 90 % эпителиальных клеток нормальной вилочковой железы и широко исследовалась в ОТ в связи с агрессивностью их биологического поведения. На материале из 100 тимом и 69 РТ высокая экспрессия PD-L1 и FOXP3+T reg ассоциировалась с более высокой степенью злокачественности новообразований. В других исследованиях экспрессия PD-L1 в тимоме варьировала от 23 % до 92 % опухолевых клеток, а в РТ – от 36 % до 100 % опухолевых клеток. Действительно, ряд клинических и патологических особенностей (а именно: молодой возраст, распространенная стадия заболевания согласно классификации М-К, невозможность радикального удаления и неoadъювантная терапия тимомы) коррелировал с высокой экспрессией PD-L1. Напротив, корреляция с морфологическими подтипами остается неясной. До сих пор не представлены достоверные данные относительно показателей выживаемости, с учетом того, что в некоторых исследованиях высокая экспрессия PD-L1 коррелировала с лучшей выживаемостью, а в других – с плохими исходами. Кроме экспрессии PD-L1 изучена выраженность инфиль-

трации опухолевой ткани TILs, хотя и на ограниченном материале. R. Higuchi с коллегами исследовали экспрессию PD-L1 и выраженность TILs в хирургических препаратах у 39 больных тимомы и РТ. Экспрессия PD-L1 выше 1 % зарегистрирована в 54 % образцов с различным распределением среди подтипов ОТ: B2 > B3 > РТ > B1 > АВ > А. Определена высокая инфильтрация (84 %) CD8+ среди CD3+ TILs, которая равномерно распределилась среди всех случаев. Высокая экспрессия PD-1 в TILs обнаружена в 23–62 % PTCS без какой-либо предиктивной или прогностической значимости [29-31].

Интересно то, что TMB в ОТ является одним из самых низких среди злокачественных опухолей. Вопрос о том, является ли PD-L1 лучшим прогностическим биомаркером, остается спорным из-за ухудшения состояния многих больных, несмотря на проведение ИТ. Более благоприятное лечебное действие лучше при агрессивных тимоме B2 или B3 подтипов, хотя высокая распространенность АИР затрудняет использование ИИКТ.

Эффективность ИТ в клинических исследованиях

ИИКТ изучены в нескольких клинических исследованиях ОТ. В одно групповом исследовании II фазы 40 больным рецидивирующим РТ проведено лечение пембролизумабом – гуманизированным антителом IgG4, таргетированным на рецептор PD-1. Пациенты с АИР в анамнезе в исследование не включались. Общая частота ответов (ORR) наблюдалась в 22,5 % случаев. Контроль над заболеванием был достигнут у 30 (75 %) пациентов с медианой продолжительности ответа – 3 года. Медиана выживаемости без прогрессирования (PFS- progression free survival) составила 4,2 мес., а медиана общей выживаемости (ОВ) – 24,9 мес.

Однолетние PFS и ОВ достигли 29 % и 71 %, соответственно, а 5-летняя ОВ составила 8 %. Высокая, не менее 50 %, экспрессия PD-L1 в опухолевых клетках отмечена у 10 (25 %) пациентов, что ассоциировалось с более длительной выживаемостью: медиана PFS 24 против 2,9 мес.; медиана ОВ не достигнута по сравнению с 15,5 мес. При экспрессии PD-L1 опухолевыми клетками менее 50 % только у 3 из 27 пациентов был достигнут ответ. Сигнатура IFN-γ, оцененная с помощью анализа Nanostring, коррелировала с ответом на терапию пембролизумабом, напротив мутация TP53, зарегистрированная в 36 % опухолей, ассоциировалась с более низкой экспрессией PD-L1 и более короткой ОВ. Интересно, что после рецидива заболевания 4 больным, у одного из них через 2 года после завершения терапии пембролизумабом, пембролизумаб назначался повторно с 2 ответами на лечение [32].

J. Cho с коллегами провели второе клиническое исследование с аналогичным дизайном, изучив эффективность пембролизумаба у 26 больных рецидивирующим РТ и у 7 пациентов рецидивирующей тимомой (подтип B1-4, подтип B2 / B3-1 и подтип B3-1). У трех больных в анамнезе была МГ. ORR составил 19,2 % у больных РТ и 28,6 % у пациентов с тимомой. Подобным образом, из 26 больных РТ у 5 (19 %) достигнут частичный ответ, а у 14 (54 %) – стабилизация заболевания. Опухоли с высокой экспрессией PD-L1 лучше поддавались лечению. Медиана продолжительности ответа у пациентов с тимомой не достигнута, у больных РТ составила 9,7 мес. Медиана PFS составил 6,1 мес. в обеих группах. Медиана ОВ составила 14,5 мес. для страдающих РТ и не была достигнута у пациентов с тимомой (табл. 1) [33].

Авелумаб, человеческое антитело IgG1 против PD-L1, изучен у 7 больных тимомой и 1РТ без ауто-

Таблица 1. Клинические исследования иммунотерапии эпителиальных опухолей вилочковой железы

Автор / год	Фаза / N	Препарат	RR / DCR (%)	Медиана PFS (мес.)	Медиана ОВ (мес.)	irAEs ≥ 3 ст. (%)
Giaccone et al. (33)	II / 40 РТ	Пембролизумаб	23 / 76 %	4,2	24,9	15 %
Cho et al. (34)	II / 40 РТ и 7Т	Пембролизумаб	19 / 73 % 29 / 100 %	6,1	14,5 Не достигнута	15,4 % 71,4 %
Katsuya et al. (36)	II / 13 РТ	Ниволумаб	0 / 38 %	3,8	11,3	13 %
Heery et al. (35)	I / 7 Т 1 РТ	Авелумаб	5 %	50	-	63 %

Примечание: N – количество больных; РТ – рак тимуса; Т – тимомы; RR / DCR – объективный ответ; PFS – выживаемость без прогрессирования; ОВ – общая выживаемость; irAEs – нежелательные явления, связанные с иммунотерапией.

иммунных состояний в анамнезе. Среди пациентов с тимомой зарегистрированы следующие морфологические подтипы: B3-2, B2 / B3-1, B2-2 и B1-1. У четырех (57 %) из 7 больных тимомой получен объективный ответ, включая подтвержденный частичный ответ у 2 (29 %) пациентов. Следует отметить, что значительное уменьшение размеров опухоли наблюдалось уже после одной дозы авелумаба у трех больных [34].

Наконец, в японском исследовании II фазы оценивалась роль ниволумаба в лечении пациентов с неоперабельными или рецидивными карциномами вилочковой железы. Из них у 11 пациентов зарегистрирована стабилизация заболевания, в том числе у пяти больных в течение 24 или более недель. Медиана PFS и медиана ОВ составили 3,8 мес. и 14,1 мес., соответственно. Дальнейшее включение пациентов в исследование прекращено досрочно на первом этапе из-за того, что ни у одного из них не достигнуто объективного ответа [35].

Усиление аутоиммунной токсичности

Активация иммунитета увеличивает риск развития нежелательных побочных явлений, связанных с ИТ (irAE – immune-related adverse events). Частота связанных с лечением нежелательных явлений в рассматриваемых исследованиях относительно высока по сравнению с результатами ИТ других злокачественных новообразований, таких как меланома, НМРЛ, плоскоклеточный рак головы и шеи и уротелиальная карцинома, где частота irAE 3 и более степени тяжести колеблется от 3 % до 9,7 % [36].

Среди 40 больных в исследовании G. Giaccone и соавт., получавших пембролизумаб, у 6 (15 %) развились серьезные АИР, а у 4 (10 %) имели место более одного состояния: в двух наблюдениях – полимиозит и миокардит; в одном случае – панкреатит, гепатит и сахарный диабет; в одном наблюдении – буллезный пемфигOID (аутоиммунное отслаивание участков эпидермиса); в одном случае – полимиозит и гепатит; и, наконец, один случай значительного повышения уровня печеночных трансаминаз. Трем больным из-за тяжелой токсичности лечение пришлось прекратить. Пациенты, страдающие миокардитом и полимиозитом, а также буллезным пемфигOIDом, для купирования состояний нуждались в назначении кортикостероидных гормонов [33]. Следует отметить, что у одного больного с развившимся миозитом, миокардитом и исходной МГ на

протяжении 40 мес. наблюдался полный ответ [32].

В другом исследовании у 5 (71 %) из 7 пациентов с тимомой и 4 (15 %) из 26 больных РТ отмечены irAE 3 и более степени тяжести, включая гепатит – 12,1 %, миокардит – 9,1 % и МГ – 6,1 %, которая у 1 пациента была исходно; кроме того, регистрировались тиреоидит, антинейтрофильные цитоплазматические антитела, ассоциированные с быстро прогрессирующим гломерулонефритом, колитом и миоклоном. Лечение прекратили 8 (24,2 %) больных. Терапия нежелательных токсических реакций, как правило основывалась на назначении кортикостероидных гормонов и иммуноглобулинов [33].

Среди больных, получавших ниволумаб, серьезные АИР наблюдались в двух случаях: повышение уровня трансаминаз и недостаточность надпочечников [35]. Среди пациентов, получивших терапию авелумабом, нежелательные побочные явления, связанные с ИТ всех степеней отмечены у 5 (63 %) больных [34].

Особую тревогу вызывает частота возникновения миокардита, поскольку миокардит сопровождается ОТ менее чем в 1 % случаев [32]. Миокардит наблюдается у 5 % больных РТ и у 43–57 % пациентов с тимомой, включенных в клинические исследования терапии ИИКТ [26; 34; 35]. Данный факт подтвержден и в нескольких продолжающихся исследованиях ИТ эпителиальных опухолей вилочковой железы [36].

Миозит наблюдался у 8 % пациентов с РТ, получавших пембролизумаб, и более чем у половины пациентов с тимомой, включенных в исследование по увеличению дозы авелумаба [26]. Мышечная токсичность объясняется существованием клонов TCR и повышенной экспрессией МНС-I в мышечных волокнах с воспалительными инфильтратами макрофагов и лимфоцитов после лечения ИИКТ. Следует отметить, что у пациентов, у которых развился миозит, не обнаружено специфических антител до и после терапии ИИКТ [37].

МГ часто сопутствующая ОТ в качестве нежелательных побочных явлений, связанных с ИТ отмечена у 3–14 % больных ОТ, получавших пембролизумаб [26; 33]. Как объяснялось выше, для развития МГ необходимы антитела против AхR, а также антитела к MuSK и Lrp4 [37]. Интересно, что чистая аплазия эритроцитов, описываемая как наиболее распространенная АИР после МГ в исследованиях по ИТ эпителиальных опухолей вилочковой железы, не регистрировалась.

Продолжающиеся клинические исследования

При тимоме В1/В2 подтипа ИТ не назначается из-за высокой распространенности АИР [4] и не должна проводиться без всестороннего обсуждения рисков на многопрофильном онкологическом консилиуме. В настоящее время проводится несколько клинических исследований эффективности использования ИИКТ как в монотерапии, так и в комбинации. В Европе EORTC (European Organization for Research and Treatment of Cancer) и Европейская платформа торакальной онкологии начали исследование II фазы NIVOTHYМ для изучения эффективности ниволумаба или его комбинации с ипилимумабом у больных прогрессирующей, рефрактерной тимомой В3 подтипа или РТ с планируемой строгой регистрацией АИР (NCT03134118). В Онкологическом центре MD Anderson проводится исследование фазы I/II с применением пембролизумаба при РТ и тимоме (NCT03295227). Национальный институт рака (NCI) разработал протокол II фазы для оценки

эффективности и токсичности ИТ авелумабом при тимоме и РТ, (NCT03076554) (табл. 2).

Недавно опубликованы предварительные результаты протокола CAVEATT – исследования по изучению сочетанного назначения авелумаба с акситиниба, показавшие частичный ответ и стабилизацию заболевания в 40 % и 60 %, соответственно, с медианой PFS – 7,9 мес. и приемлемым профилем токсичности [38]. Кроме того, изучаются комбинации ИИКТ с ингибиторами тирозин-киназы (сунитинибом или ленватинибом) или с ингибитором индолеамина 2,3-диоксигеназы-1 (IDO – indoleamina 2,3-dioxigenasa-1), вследствие важности данных сигнальных путей в ОТ. Следует отметить, что у больных, получавших комбинацию пембролизумаба и эпакадоската до прекращения исследования, не было зарегистрировано никаких неожиданных результатов, полученных при меланоме [32]. Новой изучаемой комбинацией в терапии ОТ является биспецифическое однодоменное Fc-слитое анти-тело (PD-L1/CTLA4) KN046 (NCT04469725). Наконец, данные о преимуществах неоадьювантного

Таблица 2. Продолжающиеся клинические исследования иммунотерапии эпителиальных опухолей вилочковой железы

NCT/ фаза	Название, количество больных (N)	Препарат	Тип опухоли	Конечные точки исследования
NCT03076554 / II	NCI, N = 55	Авелумаб	РТ, тимоме	Безопасность, уровень ответа
NCT03134118 / II	NIVOTHYМ, N = 50\50	Ниволумаб / Ниволумаб + Ипилимумаб	РТ, тимоме В3	PFS
NCT03295227 / I–II	MD Anderson Cancer Center, N = 30	Пембролизумаб	РТ, тимоме	Дозо-лимитирующая токсичность
NCT04321330 / II	ML41253, N = 34	Атезолизумаб	РТ	Уровень ответа
NCT04417660 / II	Maryland, N = 38	Бинтрафасп Альфа	РТ, тимоме	Уровень ответа
NCT03463460 / II	NCI, N = 40	Пембролизумаб + Сунитиниб	РТ	Уровень ответа
NCT04710628 / II	PECATI, N = 43	Пембролизумаб + Ленватиниб	РТ, тимоме	PFS
NCT02364076 / II	Georgetown University, N = 45	Пембролизумаб + Эпакадостат	РТ	Уровень ответа
NCT03583086 / I–II	Vanderbilt-Ingram Cancer Center, N = 177	Ниволумаб + Вороланиб	РТ	Безопасность, уровень ответа
NCT04234113 / I–Ib	Sotio, N = 96	Пембролизумаб и SO-C101 (IL-15/IL-15R α)	РТ	Дозо-лимитирующая токсичность
NCT04469725 / II	Jiangsu, N = 66	KN046 (PD-L1/CTLA4 bispecific single domain Fc protein antibody)	РТ	Уровень ответа.
NCT03858582 / II	Samsung Medical Center, N = 40	Пембролизумаб в сочетании с неоадьювантной и адьювантной химиотерапией	РТ, тимоме	Выраженный патологический ответ

Примечание: РТ – рак тимуса; PFS (progression-free survival) – выживаемость без прогрессирования.

и адъювантного подходов к ИТ солидных опухолей легли в основу исследований по оценке их эффективности в лечении ОТ, например, применительно к пембролизумабу (NCT03858582) (табл. 2).

Существующие проблемы ИТ

Поскольку пациенты с ОТ имеют повышенный риск развития связанных с лечением нежелательных явлений, это важный аспект, который следует учитывать при отборе кандидатов для ИТ. Необходимы некоторые подходы к снижению риска irAEs и повышению безопасности ИТ эпителиальных опухолей вилочковой железы.

В зависимости от гистологических характеристик для каждого морфологического подтипа вероятность развития АИР различна. Степень инфильтрации лимфоцитами опухоли отличается от В1 – богатой лимфоцитами до В3 – бедной лимфоцитами. Кроме того, с каждым морфологическим подтипом связаны различные молекулярные профили [13]. Известно, что ранее обнаруженные аутоантитела против АхР и В-клеточная лимфопения, изученные при тимоме, коррелируют с более высоким риском развития миозита при назначении авелумаба [39]. Кроме того, сверхэкспрессия CHRNA1 и RYR3 (Ryanodine receptor type 3) присутствует в тимоме с клиникой МГ [13], что связано со способностью опухолевых клеток секретировать функциональные белки, имитирующие не опухолевые клетки [37]. Отличительной чертой таких опухолей является их связь с аутоиммунитетом, осуществляемая через сверхэкспрессию мышечных аутоантигенов и повышенную анеуплоидию [13].

Имеются данные о проблемах повторного назначения ИИКТ больным с развившимся irAE на фоне предшествующей ИТ. В некоторых ретроспективных исследованиях отмечено до 55 % таких случаев irAE, но не столь выраженных, как при первоначальном лечении [40]. Однако данный сценарий недостаточно изучен при тимоме из-за высокой вероятности развития АИР. Тщательный мониторинг и молекулярное профилирование АИР в ОТ открывают возможности для включения пациентов

с данной патологией в клинические исследования.

Такая тактика изучена у больных меланомой, получавших ипилимумаб; из 30 пациентов с прогрессирующей меланомой, страдающих различными АИР, такими как болезнь Грейвса, болезнь Крона и ревматоидный артрит у 27 % отмечено обострение АИР, у 33 % зарегистрировано развитие новых irAE, в то время как у половины больных лечение прошло без обострения старых и возникновения новых аутоиммунных состояний [41]. Наконец, в качестве нового подхода предложено сочетание ИИКТ с селективными иммунодепрессантами, предотвращающего вспышки АИР [42], которое должно быть глубоко изучено при ОТ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Иммунотерапия представляет собой новый подход к лечению распространенных эпителиальных опухолей вилочковой железы, хотя её внедрение в повседневную клиническую практику представляется сложной задачей, что обусловлено особой биологией данных злокачественных новообразований. Несмотря на то, что частота связанных с лечением нежелательных явлений выше при тимоме по сравнению с карциномой тимуса, больные раком вилочковой железы также подвержены риску развития иммунной токсичности. Тем не менее, повторное назначение ИИКТ возможно, но требует очень тщательного мониторинга аутоиммунных расстройств. Многообещающими представляются новые комбинации ИТ и таргетной терапии. На наш взгляд глубокое понимание молекулярно-генетического и иммунного ландшафта эпителиальных опухолей вилочковой железы и взаимодействия ИИКТ с иммунной системой является ключом к повышению эффективности и предотвращению побочного аутоиммунного действия ИТ. Всестороннее решение существующих проблем, несомненно, позволит открыть новые возможности лекарственного лечения этого редкого и трудного заболевания.

Список источников

1. Venuta F, Anile M, Diso D, Vitolo D, Rendina EA, De Giacomo T, et al. Thymoma and thymic carcinoma. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2010 Jan;37(1):13–25. <https://doi.org/10.1016/j.ejcts.2009.05.038>
2. Travis WD, Brambilla E, Burke AP, Marx A, Nicholson AG. Introduction to The 2015 World Health Organization Classification of Tumors of the Lung, Pleura, Thymus, and Heart. *J Thorac Oncol*. 2015 Sep;10(9):1240–1242. <https://doi.org/10.1097/JTO.0000000000000663>

3. Marx A, Ströbel P, Badve SS, Chalabreysse L, Chan JKC, Chen G, et al. ITMIG consensus statement on the use of the WHO histological classification of thymoma and thymic carcinoma: refined definitions, histological criteria, and reporting. *J Thorac Oncol.* 2014 May;9(5):596–611. <https://doi.org/10.1097/JTO.0000000000000154>
4. Benitez JC, Besse B. Narrative review of immunotherapy in thymic malignancies. *Transl Lung Cancer Res.* 2021 Jun;10(6):3001–3013. <https://doi.org/10.21037/tlcr-20-1222>
5. Masaoka A, Monden Y, Nakahara K, Tanioka T. Follow-up study of thymomas with special reference to their clinical stages. *Cancer.* 1981 Dec 1;48(11):2485–2492. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19811201\)48:11<2485::aid-cnrcr2820481123>3.0.co;2-r](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19811201)48:11<2485::aid-cnrcr2820481123>3.0.co;2-r)
6. Колбанов К. И., Пикин О. В., Рябов А. Б., Глушко В. А. Опухоли средостения: классификации. *Онкология. Журнал им. П. А. Герцена.* 2019;8(6):471–478. <https://doi.org/10.17116/onkolog20198061471>
7. Hishida T, Nomura S, Yano M, Asamura H, Yamashita M, Ohde Y, et al. Long-term outcome and prognostic factors of surgically treated thymic carcinoma: results of 306 cases from a Japanese Nationwide Database Study. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2016 Mar;49(3):835–841. <https://doi.org/10.1093/ejcts/ezv239>
8. Meurgey A, Girard N, Merveilleux du Vignaux C, Maury JM, Tronc F, Thivolet-Bejui F, et al. Assessment of the ITMIG Statement on the WHO Histological Classification and of the Eighth TNM Staging of Thymic Epithelial Tumors of a Series of 188 Thymic Epithelial Tumors. *J Thorac Oncol.* 2017 Oct;12(10):1571–1581. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2017.06.072>
9. Girard N, Ruffini E, Marx A, Faivre-Finn C, Peters S, ESMO Guidelines Committee. Thymic epithelial tumours: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2015 Sep;26 Suppl 5:v40–55. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdv277>
10. Okuma Y, Saito M, Hosomi Y, Sakuyama T, Okamura T. Key components of chemotherapy for thymic malignancies: a systematic review and pooled analysis for anthracycline-, carboplatin- or cisplatin-based chemotherapy. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2015 Feb;141(2):323–331. <https://doi.org/10.1007/s00432-014-1800-6>
11. Thomas A, Rajan A, Berman A, Tomita Y, Brzezniak C, Lee MJ, et al. Sunitinib in patients with chemotherapy-refractory thymoma and thymic carcinoma: an open-label phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2015 Feb;16(2):177–186. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)71181-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)71181-7)
12. Zucali PA, De Pas T, Palmieri G, Favaretto A, Chella A, Tiseo M, et al. Phase II Study of Everolimus in Patients With Thymoma and Thymic Carcinoma Previously Treated With Cisplatin-Based Chemotherapy. *J Clin Oncol.* 2018 Feb 1;36(4):342–349. <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.74.4078>
13. Radovich M, Pickering CR, Felau I, Ha G, Zhang H, Jo H, et al. The Integrated Genomic Landscape of Thymic Epithelial Tumors. *Cancer Cell.* 2018 Feb 12;33(2):244–258.e10. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.01.003>
14. Mariano C, Ionescu DN, Cheung WY, Ali RH, Laskin J, Evans K, et al. Thymoma: a population-based study of the management and outcomes for the province of British Columbia. *J Thorac Oncol.* 2013 Jan;8(1):109–117. <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e318276241c>
15. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, Gettinger SN, Smith DC, McDermott DF, et al. Five-Year Survival and Correlates Among Patients With Advanced Melanoma, Renal Cell Carcinoma, or Non-Small Cell Lung Cancer Treated With Nivolumab. *JAMA Oncol.* 2019 Oct 1;5(10):1411–1420. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2019.2187>
16. Huang J, Ahmad U, Antonicelli A, Catlin AC, Fang W, Gomez D, et al. Development of the international thymic malignancy interest group international database: an unprecedented resource for the study of a rare group of tumors. *J Thorac Oncol.* 2014 Oct;9(10):1573–1578. <https://doi.org/10.1097/JTO.0000000000000269>
17. Boucher M, Dansin E, Kerjouan M, Mazieres J, Pichon E, Thillays F, et al. OA 03.01 Prevalence of Autoimmune Diseases in Thymic Epithelial Tumors (TET) Insights from RYTHMIC. *Journal of Thoracic Oncology.* 2017 Nov 1;12(11):S1748–1749. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2017.09.334>
18. Benitez JC, Boucher ME, Dansin E, Kerjouan M, Bigay-Game I, Pichon E, et al. 53P Studying autoimmune diseases with thymic epithelial tumors (TET): Real-world insight from RYTHMIC. *Annals of Oncology.* 2020 Dec 1;31:S1437. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.10.540>
19. Noël N, Le Roy A, Hot A, Saadoun D, Lazaro E, Lévesque H, et al. Systemic lupus erythematosus associated with thymoma: A fifteen-year observational study in France. *Autoimmun Rev.* 2020 Mar;19(3):102464. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2020.102464>
20. Molina T, Bluthgen M, Chalabreysse L, Thomas de Montpréville V, Muret A, Hofman V, et al. Pathological central review of 290 thymic epithelial tumors (TET): The national network RYTHMIC experience. *Journal of Clinical Oncology.* 2016 May 20;34:8568–8568. https://doi.org/10.1200/JCO.2016.34.15_suppl.8568

21. Gilhus NE. Myasthenia Gravis. *N Engl J Med*. 2016 Dec 29;375(26):2570–2581. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1602678>
22. Liu Y, Zhang H, Zhang P, Meng F, Chen Y, Wang Y, et al. Autoimmune regulator expression in thymomas with or without autoimmune disease. *Immunol Lett*. 2014 Sep;161(1):50–56. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2014.04.008>
23. Guo F, Wang CY, Wang S, Zhang J, Yan YJ, Guan ZY, et al. Alteration in gene expression profile of thymomas with or without myasthenia gravis linked with the nuclear factor-kappaB/autoimmune regulator pathway to myasthenia gravis pathogenesis. *Thorac Cancer*. 2019 Mar;10(3):564–570. <https://doi.org/10.1111/1759-7714.12980>
24. Benitez JC, Job B, Thomas de Montpréville V, Lacroix L, Saulnier P, Arana R, et al. Cancer activation pathways of thymic epithelial tumors (TETs) by targeted gene expression analysis. *Journal of Clinical Oncology*. 2021 May 20;39:8575. https://doi.org/10.1200/JCO.2021.39.15_suppl.8575
25. Ruan X, Lu X, Gao J, Jiang L, Zhu Y, Zhou Y, et al. Multiomics data reveals the influences of myasthenia gravis on thymoma and its precision treatment. *J Cell Physiol*. 2021 Feb;236(2):1214–1227. <https://doi.org/10.1002/jcp.29928>
26. Giaccone G, Kim C, Thompson J, McGuire C, Kallakury B, Chahine JJ, et al. Pembrolizumab in patients with thymic carcinoma: a single-arm, single-centre, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2018 Mar;19(3):347–355. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30062-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30062-7)
27. Lee MC, Hsiao TH, Chuang HN, Lee LW, Chi PL, Tsai HM, et al. Molecular profiling of thymoma with myasthenia gravis: Risk factors of developing myasthenia gravis in thymoma patients. *Lung Cancer*. 2020 Jan;139:157–164. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2019.11.007>
28. Харагезов Д. А., Лазутин Ю. Н., Златник Е. Ю., Сагакянц А. Б., Мирзоян Э. А., Милакин А. Г. и др. Биомаркеры для иммунотерапии немелкоклеточного рака легкого. Южно-Российский онкологический журнал/ South Russian Journal of Cancer. 2021;2(3):31–41. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2021-2-3-4>, EDN: YCDCWC
29. Higuchi R, Goto T, Hirotsu Y, Nakagomi T, Yokoyama Y, Otake S, et al. PD-L1 Expression and Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Thymic Epithelial Neoplasms. *J Clin Med*. 2019 Nov 1;8(11):1833. <https://doi.org/10.3390/jcm8111833>
30. Yokoyama S, Miyoshi H, Nishi T, Hashiguchi T, Mitsuoka M, Takamori S, et al. Clinicopathologic and Prognostic Implications of Programmed Death Ligand 1 Expression in Thymoma. *Ann Thorac Surg*. 2016 Apr;101(4):1361–1369. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2015.10.044>
31. Katsuya Y, Horinouchi H, Asao T, Kitahara S, Goto Y, Kanda S, et al. Expression of programmed death 1 (PD-1) and its ligand (PD-L1) in thymic epithelial tumors: Impact on treatment efficacy and alteration in expression after chemotherapy. *Lung Cancer*. 2016 Sep;99:4–10. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2016.05.007>
32. Giaccone G, Kim C. Durable Response in Patients With Thymic Carcinoma Treated With Pembrolizumab After Prolonged Follow-Up. *J Thorac Oncol*. 2021 Mar;16(3):483–485. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2020.11.003>
33. Cho J, Kim HS, Ku BM, Choi YL, Cristescu R, Han J, et al. Pembrolizumab for Patients With Refractory or Relapsed Thymic Epithelial Tumor: An Open-Label Phase II Trial. *J Clin Oncol*. 2019 Aug 20;37(24):2162–2170. <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.77.3184>
34. Heery CR, O'Sullivan-Coyne G, Madan RA, Cordes L, Rajan A, Rauckhorst M, et al. Avelumab for metastatic or locally advanced previously treated solid tumours (JAVELIN Solid Tumor): a phase 1a, multicohort, dose-escalation trial. *Lancet Oncol*. 2017 May;18(5):587–598. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30239-5](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30239-5)
35. Katsuya Y, Horinouchi H, Seto T, Umemura S, Hosomi Y, Satouchi M, et al. Single-arm, multicentre, phase II trial of nivolumab for unresectable or recurrent thymic carcinoma: PRIMER study. *Eur J Cancer*. 2019 May;113:78–86. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2019.03.012>
36. Kumar V, Chaudhary N, Garg M, Floudas CS, Soni P, Chandra AB. Current Diagnosis and Management of Immune Related Adverse Events (irAEs) Induced by Immune Checkpoint Inhibitor Therapy. *Front Pharmacol*. 2017;8:49. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00049>
37. Takamori M. Myasthenia Gravis: From the Viewpoint of Pathogenicity Focusing on Acetylcholine Receptor Clustering, Trans-Synaptic Homeostasis and Synaptic Stability. *38Front Mol Neurosci*. 2020;13:86. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2020.00086>
38. Conforti F, Pala L, Catania C, Zucali P, Vigna P, Pirola S, et al. Safety and activity of Combined AVELumab with Axitinib in unresectable or metastatic Thymomas B3 and Thymic carcinomas: The CAVEATT study. *Journal of Clinical Oncology*. 2020 May 20;38:e21114. https://doi.org/10.1200/JCO.2020.38.15_suppl.e21114
39. Mammen AL, Rajan A, Pak K, Lehky T, Casciola-Rosen L, Donahue RN, et al. Pre-existing antiacetylcholine receptor autoantibodies and B cell lymphopaenia are associated with the development of myositis in patients with thymoma treated with avelumab, an immune checkpoint inhibitor targeting programmed death-ligand 1. *Ann Rheum Dis*. 2019 Jan;78(1):150–152. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2018-213777>

40. Simonaggio A, Michot JM, Voisin AL, Le Pavec J, Collins M, Lallart A, et al. Evaluation of Readministration of Immune Checkpoint Inhibitors After Immune-Related Adverse Events in Patients With Cancer. *JAMA Oncol.* 2019 Sep 1;5(9):1310–1317. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2019.1022>
41. Johnson DB, Sullivan RJ, Ott PA, Carlino MS, Khushalani NI, Ye F, et al. Ipilimumab Therapy in Patients With Advanced Melanoma and Preexisting Autoimmune Disorders. *JAMA Oncol.* 2016 Feb;2(2):234–240. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2015.4368>
42. Haanen J, Ernstoff MS, Wang Y, Menzies AM, Puzanov I, Grivas P, et al. Autoimmune diseases and immune-checkpoint inhibitors for cancer therapy: review of the literature and personalized risk-based prevention strategy. *Ann Oncol.* 2020 Jun;31(6):724–744. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.03.285>

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

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

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

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

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

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

Айрапетова Тамара Георгиевна – к.м.н., хирург отделения торакальной онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. SPIN: 8121-4039, AuthorID: 794672

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

Гаппоева Мадина Асланбековна – онколог клинко-диагностического отделения, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0783-8626>

Витковская Виктория Николаевна – онколог клинко-диагностического отделения, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9603-1607>

Иозефи Кристиан Дмитриевич – аспирант, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5351-3251>, SPIN: 1232-3097, AuthorID: 1122592, ResearcherID: AAZ-3632-2021

Хомидов Мехруллоходжа Абдусудурович – аспирант, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0645-0937>

Участие авторов:

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

Лазутин Ю. Н. – написание текста, обработка материала;

Мирзоян Э. А., Милакин А. Г., Статешный О. Н., Айрапетова Т. Г., Лейман И. А., Гаппоева М. А., Витковская В. Н., Иозефи К. Д., Хомидов М. А. – сбор и анализ данных, техническое редактирование, оформление библиографии.



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

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

PEER-REVIEWED SCIENTIFIC AND PRACTICAL
South Russian Journal of Cancer

www.cancersp.com

