



ФГБУ "НМИЦ онкологии"
МИНЗДРАВА РОССИИ

ISSN 2686-9039 (Online)

Южно-Российский онкологический журнал

РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ

South Russian Journal of Cancer

PEER-REVIEWED SCIENTIFIC AND PRACTICAL

ТОМ
vol. **5** № **2/2024**

www.cancersp.com

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» – ежеквартальный научно-практический рецензируемый журнал. Профессиональное медицинское издание, в котором отражаются результаты актуальных исследований по тематике публикаций: диагностика и лечение онкологических заболеваний, вопросы канцерогенеза и молекулярной онкологии, новые лекарственные средства и технологии. Основан в 2019 г.

Цель журнала:

- Способствовать развитию онкологической медицины Юга России и внедрению её достижений в практику.
- Качественный опубликованный контент, включающий последние и заслуживающие доверия научные труды, исследования или работы по проблемам онкологии.

Задачи журнала:

- Популяризация современных достижений онкологической службы на Юге России;
- Содействие обмену опытом и передаче передовых знаний между специалистами;

- Информирование читателей о результаты крупных медицинских форумов;
- Предоставление ученым возможности опубликовать результаты своих исследований;
- Достижение международного уровня в научных публикациях;
- Продвижение журнала на международном и российском рынках;
- Привлечение внимания к актуальным, перспективным и интересным направлениям научных исследований, связанных с тематикой журнала;
- Привлечение авторитетных национальных и международных авторов высокого уровня;
- Расширение состава редакционной коллегии и рецензентов путем привлечения известных экспертов из России и других стран;
- Обеспечение полнотекстового доступа к научным статьям и повышение доступности и открытости журнала в России и за рубежом;
- Повышение импакт-фактора журнала.

Журнал принимает к публикации: результаты оригинальных исследований, обзоры литературы, описание клинических случаев.

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., проф., ученый секретарь, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

КОРРЕКТОР

Богданова Дина Петровна

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 номера в год.

Опубликовано 31.05.2024

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

Енгбарян 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

Иванов Сергей Анатольевич,
проф. РАН, д.м.н., МРНЦ им. А. Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск, Россия

Каприн Андрей Дмитриевич,
академик РАН, д.м.н., проф., ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия

Костин Андрей Александрович,
чл.- корр. РАН, д.м.н., проф., ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов», ФГБУ «НМИЦ радиологии», Москва, 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. Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.

За достоверность сведений, указанных в рекламных объявлениях, ответственность несут рекламодатели.

Точка зрения редакции может не совпадать с мнением авторов.

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.

The "South Russian Journal of Cancer" is a quarterly scientific and practical peer-reviewed journal. A professional medical publication that reflects the results of current research on the subject of publications: diagnosis and treatment of oncological diseases, issues of carcinogenesis and molecular oncology, new medicines and technologies. It was founded in 2019.

The purpose of the journal:

- To promote the development of oncological medicine in the South of Russia and the implementation of its achievements in practice.
- High-quality published content that includes the latest and trustworthy scientific papers, research or work on oncology issues.

Tasks of the journal:

- Popularization of modern achievements of the oncological service in the South of Russia;
- Facilitating the exchange of experience and transfer of advanced knowledge between specialists;
- Informing readers about the results of major medical forums;
- Giving scientists the opportunity to publish the results of their research;
- Achieving an international level in scientific publications;

EDITOR-IN-CHIEF

Oleg I. Kit,

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

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF

Aleksei Yu. Maksimov,

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

EXECUTIVE SECRETARY

Elena A. Dzhenkova,

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

PROOFREADER

Dina P. Bogdanova

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

An open access journal, all content is freely available for free to the user or institution. This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 License.

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 31.05.2024

- Promotion of the magazine on the international and Russian markets;
- Drawing attention to relevant, promising and interesting areas of scientific research related to the journal's subject matter;
- Involvement of reputable national and international high-level authors;
- Expansion of the editorial board and reviewers by attracting well-known experts from Russia and other countries;
- Providing full-text access to scientific articles and increasing the accessibility and openness of the journal in Russia and abroad;
- Increasing the impact factor of the journal.

The journal accepts for publication:

the results of original research, literature reviews, and descriptions of clinical cases.

The journal "South Russian Journal of Cancer" is part of the core of the RSCI in the Russian Science Citation Index on the Web of Science platform and is presented in the following scientometric databases and reference publications: RSCI (Russian Science Citation Index), Scientific Electronic Library E-library, CyberLeninka, DOAJ, Scilit, Mendeley, Research4life, Google Scholar, Wikidata, Internet Archive.

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

Sergei A. Ivanov,

Prof. RAS, Dr. Sci. (Med.), A. F. Tsyb Medical Radiological Research Center – Branch of the National Medical Research Radiological Center, Obninsk, Russia

Andrey D. Kaprin,

Academician of the RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., National Medical Research Radiological Centre, P. A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Radiological Centre, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

Andrey A. Kostin,

Corr. Member RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., Peoples' Friendship University of Russia, National Medical Research Radiological Centre, Moscow, 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

ОРИГИНАЛЬНЫЕ
СТАТЬИ

Опыт стереотаксической лучевой терапии и радиохирургического лечения метастатических опухолей позвонков <i>О. И. Кит, Д. Е. Закондырин, Э. Е. Росторгуев, П. Г. Сакун, В. И. Вошедский, М. А. Командиров</i>	6
Звенья фибринолитической системы у мышей с нокаутом по гену урокиназы на фоне роста меланомы B6/F0 <i>Е. М. Франциянц, В. А. Бандовкина, Е. И. Сурикова, И. В. Каплиева, Ю. А. Погорелова, И. В. Нескубина, Л. К. Трепитаки, Н. Д. Черярина, Н. Д. Ушакова, О. Г. Ишонина, М. А. Гусарева, И. А. Удаленкова</i>	14
Особенности аноректальной функции после лучевой терапии у больных раком прямой кишки <i>О. И. Кит, О. К. Бондаренко, Ю. А. Геворкян, Н. В. Солдаткина, М. А. Гусарева, Н. Г. Кошелева, А. А. Солнцева, Д. С. Петров, Д. А. Савченко</i>	25
Влияние гипоксии на пролиферативную активность клеток ортотопического ксенографта гепатоцеллюлярной карциномы печени в эксперименте <i>Т. М. Кечерюкова, В. С. Трифанов, А. А. Шульга, А. С. Гончарова, С. В. Гурова, Е. П. Ульянова, А. Ю. Максимов</i>	35
Динамика уровней цитокинов слюны при проведении интраоперационной фотодинамической терапии у больных местно-распространенным раком полости рта <i>Е. Ю. Комарова, Е. Ю. Златник, Е. Ф. Комарова, И. А. Новикова, Е. А. Дженкова, М. А. Енгибарян, А. Б. Сагакянц, В. В. Позднякова, Л. Я. Розенко</i>	43
Статус и молекулярно-генетические параметры папилломавирусной инфекции: индивидуальные особенности и ассоциативные связи с клинико-морфологическими факторами рака шейки матки <i>Л. С. Мкртчян, В. И. Киселева, Л. И. Крикунова, Б. В. Бойко, В. Р. Гусарова, Г. П. Безяева, Л. В. Панарина, С. А. Иванов, А. Д. Каприн, И. А. Замулаева</i>	53

ORIGINAL ARTICLES

Experience of stereotactic radiation therapy and radiosurgical treatment of metastatic vertebral tumors <i>O. I. Kit, D. E. Zakondyrin, E. E. Rostorguev, P. G. Sakun, V. I. Voshedskii, M. A. Komandirov</i>	6
Units of fibrinolytic system in mice with urokinase gene knockout in presence of growing B6/F0 melanoma <i>E. M. Frantsiyants, V. A. Bandovkina, E. I. Surikova, I. V. Kaplieva, Yu. A. Pogorelova, I. V. Neskubina, L. K. Trepitaki, N. D. Cheryarina, N. D. Ushakova, O. G. Ishonina, M. A. Gusareva, I. A. Udalenkova</i>	14
Features of anorectal function after radiation therapy in patients with rectal cancer <i>O. I. Kit, O. K. Bondarenko, Yu. A. Gevorkyan, N. V. Soldatkina, M. A. Gusareva, N. G. Kosheleva, A. A. Solntseva, D. S. Petrov, D. A. Savchenko</i>	25
Hypoxia effect on proliferative activity of cells in orthotopic xenograft of hepatocellular carcinoma of the liver in the experiment <i>T. M. Kecheryukova, V. S. Trifanov, A. A. Shulga, A. S. Goncharova, S. V. Gurova, E. P. Ulyanova, A. Yu. Maksimov</i>	35
Dynamics of saliva cytokine levels during intraoperative photodynamic therapy in patients with locally advanced oral cancer <i>E. Yu. Komarova, E. Yu. Zlatnik, E. F. Komarova, I. A. Novikova, E. A. Dzhenkova, M. A. Engibaryan, A. B. Sagakyants, V. V. Pozdnyakova, L. Ya. Rozenko</i>	43
Status and molecular genetic parameters of papillomavirus infection: individual characteristics and associative links with clinical and morphological factors of cervical cancer <i>L. S. Mkrtchyan, V. I. Kiseleva, L. I. Krikunova, B. V. Boyko, V. R. Gusarova, G. P. Bezyaeva, L. V. Panarina, S. A. Ivanov, A. D. Kaprin, I. A. Zamulaeva</i>	53

Опыт стереотаксической лучевой терапии и радиохирургического лечения метастатических опухолей позвонков

О. И. Кит, Д. Е. Закондырин[✉], Э. Е. Росторгуев, П. Г. Сакун, В. И. Вошедский, М. А. Командиров

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

✉ russiandoctor@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Оценка эффективности экстракраниальной стереотаксической лучевой терапии в различных режимах фракционирования при лечении пациентов с метастатическим поражением позвонков.

Пациенты и методы. В исследование включено 12 больных с метастатическим поражением позвоночника, которым была проведена экстракраниальная стереотаксическая лучевая терапия (SBRT) на линейном ускорителе Novalis Tx, Varian, в режиме радиохирургии (SRS; за 1 фракцию) и режиме гипофракционирования (разовая очаговая доза (РОД) 5Гр, суммарная очаговая доза (СОД) 25Гр, 5 фракций) в период с 01.01.2020 по 31.03.2022 гг. Оценка локального контроля осуществлялась с использованием позитронно-эмиссионной томографии – компьютерной томографии (ПЭТ-КТ) с 18ФДГ. Интенсивность болевого синдрома до и после облучения оценивали по визуальной аналоговой шкале боли (ВАШ).

Результаты. У 12 пациентов проведено облучение 19 метастатических пораженных позвонков. Методика SBRT в режиме гипофракционирования была применена у 6 (50 %) больных, в режиме радиохирургии (SRS) использована у 4 (34 %) пациентов, у 2 (17 %) больных на различных пораженных сегментах позвоночного столба применялась комбинация методов облучения. Общий объем опухоли (GTV) в среднем составлял 30,56 ± 7,8 см³. При применении радиохирургического режима облучения РОД составляла от 16 до 18Гр. При применении методики гипофракционирования СОД составила 25 Гр, РОД – 5 Гр.

Заключение. Экстракраниальная стереотаксическая лучевая терапия метастатических опухолей позвонков без компрессии невралгических структур обеспечивает локальный контроль опухоли у 92 % больных в течение 6 месяцев и у 83 % пациентов в течение 1 года, регресс болевого синдрома после облучения – у 67 % больных.

Ключевые слова: стереотаксическая лучевая терапия, радиохирургия, метастазы в позвоночник

Для цитирования: Кит О. И., Закондырин Д. Е., Росторгуев Э. Е., Сакун П. Г., Вошедский В. И., Командиров М. А. Опыт стереотаксической лучевой терапии и радиохирургического лечения метастатических опухолей позвонков. Южно-Российский онкологический журнал. 2024; 5(2): 6-13. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-2-1>, <https://elibrary.ru/gjahux>

Для корреспонденции: Закондырин Дмитрий Евгеньевич – к.м.н., докторант отделения нейроонкологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63
E-mail: russiandoctor@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0925-415X>
SPIN: 7298-0181, AuthorID: 703429

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 «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (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: Кит О. И. является членом редакционной коллегии журнала «Южно-Российский онкологический журнал» с 2019 г., но не имеет никакого отношения к решению опубликовать эту статью. Статья прошла принятую в журнале процедуру рецензирования. Об иных конфликтах интересов авторы не заявляли

Статья поступила в редакцию 03.10.2023; одобрена после рецензирования 09.04.2024; принята к публикации 09.05.2024

© Кит О. И., Закондырин Д. Е., Росторгуев Э. Е., Сакун П. Г., Вошедский В. И., Командиров М. А., 2024

Experience of stereotactic radiation therapy and radiosurgical treatment of metastatic vertebral tumors

O. I. Kit, D. E. Zakondyrin[✉], E. E. Rostorguev, P. G. Sakun, V. I. Voshedskii, M. A. Komandirov

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

✉ russiandocor@mail.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. Evaluation of the effectiveness of extracranial stereotactic radiation therapy in various fractionation regimens in the treatment of patients with metastatic vertebral lesions.

Patients and methods. The study included 12 patients with metastatic spinal lesions who underwent extracranial stereotactic radiation therapy (SBRT) on a Novalis Tx linear accelerator, Varian, in radiosurgery mode (SRS; in 1 fraction) and hypofractionation mode (SFD 5Gy, TFD 25Gy, 5 fractions) in the period from 01/01/2020 to 03/31/2022. The assessment of local control was carried out using positron emission tomography – computed tomography (PET-CT) from 18FDG. The intensity of the pain syndrome before and after radiation was assessed using a visual analog pain scale (VAS).

Results. 19 vertebrae with metastatic lesions were irradiated in 12 patients. The SBRT technique in hypofractionation mode was used in 6 (50 %) patients, in radiosurgery (SRS) mode was used in 4 (34 %) patients, in 2 (17 %) patients a combination of irradiation techniques was used on various affected segments of the spinal column. The general tumor volume (GTV) averaged $30.56 = 7.8 \text{ km}^2$. When using the radiosurgical irradiation regimen, SFD ranged from 16 to 18 Gy. When using the hypofractionation technique, the total focal dose (TFD) was 25 Gy, a single focal dose (SFD) was 5 Gy.

Conclusion. Stereotactic radiation therapy and radiosurgery of metastatic vertebral tumors without compression of neural structures provides local tumor control in 92 % of patients within 6 months and in 83 % of patients within 1 year, regression of pain after irradiation – in 67 % of patients.

Keywords: stereotactic radiotherapy, radiosurgery, spinal metastases

For citation: Kit O. I., Zakondyrin D. E., Rostorguev E. E., Sakun P. G., Voshedskii V. I., Komandirov M. A. Experience of stereotactic radiation therapy and radiosurgical treatment of metastatic vertebral tumors. South Russian Journal of Cancer. 2024; 5(2): 6-13. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-2-1>, <https://elibrary.ru/gjahux>

For correspondence: Dmitry E. Zakondyrin – Cand. Sci. (Med.), PhD student of the Department of Neurological 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: russiandocor@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0925-415X>
SPIN: 7298-0181, AuthorID: 703429

Compliance with ethical standards: This research has been carried out in compliance with the ethical principles set forth by the World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ed. 2013. The study was approved by the Committee on Biomedical Ethics at the National Medical Research Center of Oncology, the Russian Federation Ministry of Health (extract from the protocol of the meeting No. 118 dated 06/02/2022). Informed consent was received from all the participants of the study

Funding: this work was not funded.

Conflict of interest: Kit O. I. has been the member of the editorial board of the South Russian Journal of Cancer since 2019, however he has no relation to the decision made upon publishing this article. The article has passed the review procedure accepted in the journal. The authors did not declare any other conflicts of interest

The article was submitted 03.10.2023; approved after reviewing 09.04.2024; accepted for publication 09.05.2024

ВВЕДЕНИЕ

Анализ литературы показывает, что у 30–50 % онкологических больных отмечается метастатическое поражение позвоночного столба, в том числе у 70–80 % пациентов с раком молочной железы или раком простаты и у 40 % пациентов с распространенным раком легкого [1]. У одной трети пациентов поражение позвонков имеет симптомный характер. Клинические проявления наиболее часто представлены болевым синдромом, варьирующим по степени интенсивности. В течение длительного времени в лечении данной группы больных и при отсутствии показаний к оперативному лечению применялась конвенциональная лучевая терапия (КЛТ), обладающая удовлетворительным (до 80 % случаев) противоболевым эффектом, однако локальные рецидивы возникают у 60–80 % больных, а противоболевой эффект нередко развивается лишь через 2–3 недели после лечения, особенно при радиорезистентных опухолях [2]. В настоящее время конформные методы лучевой терапии в лечении метастазов в кости вытесняют конвенциональную лучевую терапию несмотря на их недостатки в виде необходимости более длительной подготовки больного, проведения дополнительных диагностических исследований и дороговизны [3]. Основным отличием конформной лучевой терапии от конвенциональной является создание поля облучения заданной формы с минимальным воздействием на окружающие ткани.

Возможность концентрации дозы облучения без ее увеличения при конформной лучевой терапии в области опухоли является, в том числе, и способом преодоления ее радиорезистентности. Среди конформных методов в лечении опухолей позвоночника стереотаксическая лучевая терапия (СЛТ) и радиохирургия (РХ) заняли ведущие позиции. При СЛТ деструкция опухоли происходит несколькими крупными фракциями (по 5–12 Гр), при РХ – подведением радикальной дозы (15–21 Гр) за один сеанс.

Цель исследования: оценка эффективности экстракраниальной СЛТ в различных режимах фракционирования при лечении пациентов с метастатическим поражением позвонков.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 12 больных с метастатическим поражением позвоночника, которым была проведена экстракраниальная СЛТ (SBRT) на линейном ускорителе Novalis Tx, Varian, в режиме РХ (SRS; за 1 фракцию) и режиме гипофракционирования (разовая очаговая доза (РОД) 5Гр, суммарная очаговая доза (СОД) 25 Гр, 5 фракций) в период с 01.01.2020 по 31.03.2022 гг.

Средний возраст пациентов составил $55,47 \pm 2,89$ лет, соотношение мужчин и женщин 2:10. Эпидуральная компрессия 1b степени была выявлена только у 1 больного. Стабильность позвоночного столба по шкале SINS составила в среднем

Таблица 1. Характеристики метастатических опухолей позвонков у пациентов

Признак	Значение показателя (n = 19)
Расположение метастатической опухоли в позвоночнике по классификации Tomita	
1 тип	4 (21 %)
5 тип	1 (5 %)
7 тип	14 (74 %)
Локализация опухоли в позвонке	
тело	13 (68 %)
тело + ножка дуги	3 (16 %)
тотальное поражение	3 (16 %)
Степень распространения опухоли по классификации Weinstein-Boriani	
B + C	18 (95 %)
A + B + C	1 (5 %)
Уровень поражения	
Шейный	2 (10,5 %)
Грудной	7 (37 %)
Поясничной	8 (42 %)
Крестцовый	2 (10 %)

5,0 ± 0,59 балла. Все пациенты были неврологически интактны (тип E по Frankel) и функционально сохранны (70–80 баллов по Karnofsky). Болевой синдром до проведения курса облучения имел место у всех пациентов, средний балл по ВАШ составлял 5,4 ± 0,67. По гистологическому типу первич-

ной опухоли распределение было следующим: рак молочной железы – 10 (84 %) больных, меланома кожи – 1 (8 %) пациент, без установленного первичного очага – 1 (8 %) больной. Характеристики метастатических опухолей позвонков у пациентов по данным нейровизуализации представлены в табл. 1.

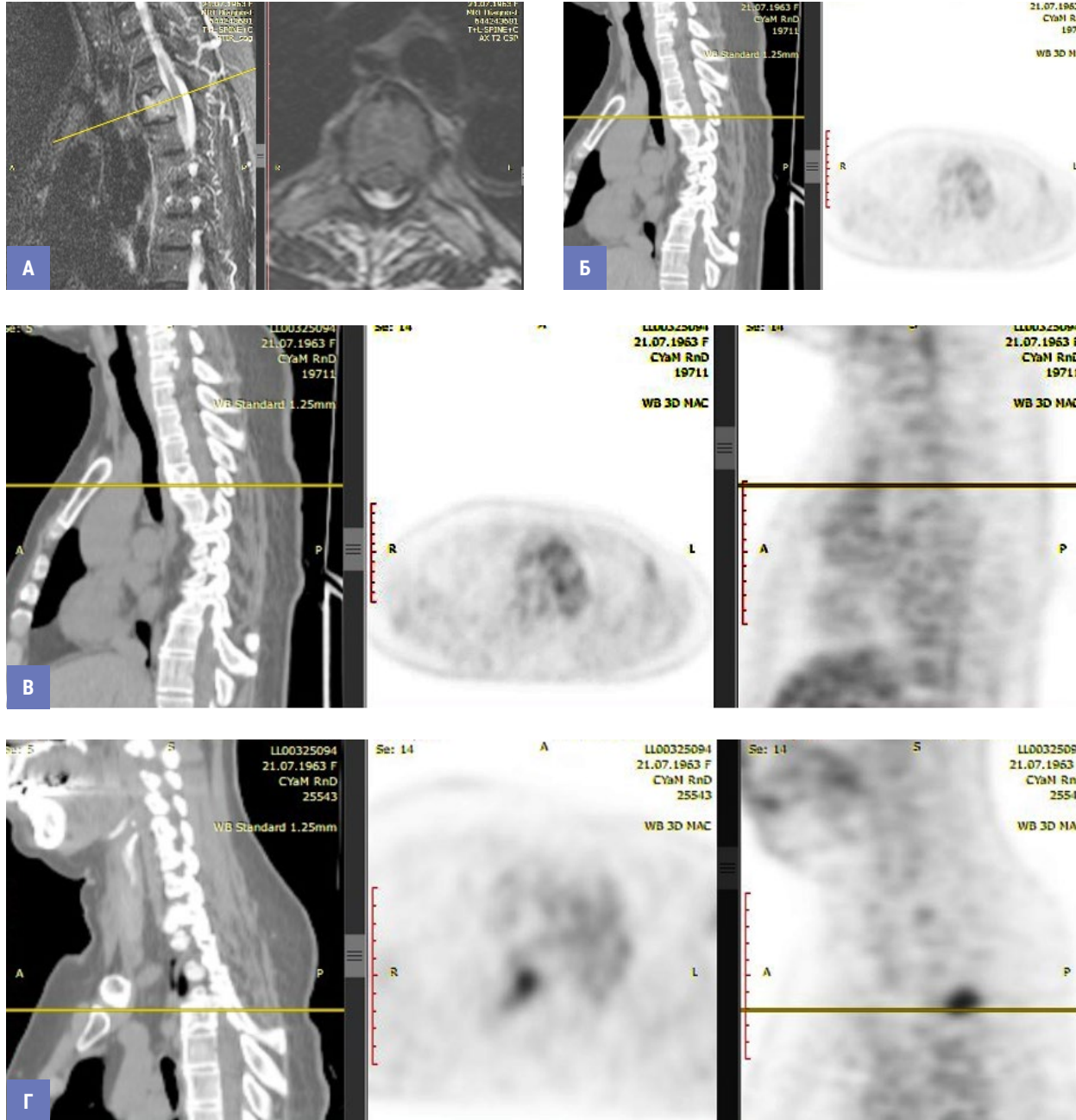


Рис. 1. Оценка локального контроля после проведенной лучевой терапии у пациентки Л-о. А, Б – данные МРТ и КТ грудного отдела позвоночника до начала лечения (признаки метастатического поражения Th3 позвонка); В – данные контрольного ПЭТ-КТ в период наблюдения через 3 мес. после облучения (признаков патологической активности в зоне облучения нет), Г – данные контрольного ПЭТ-КТ в период наблюдения через 12 мес. после облучения (признаки рецидива образования в области ножки дуги позвонка)

Общий объем опухоли (GTV) в среднем составлял $30,56 \pm 7,8 \text{ см}^2$. Средняя доза облучения при однофракционных курсах составила 26 [13; 16] Гр. При применении методики гипофракционирования средняя СОД составила 25 [25; 26] Гр, средняя РОД – 5 [5; 8] Гр.

Одиночный метастатический очаг в позвоночнике в начале лечения отмечался у 2 (17 %) больных, у остальных пациентов метастатическое поражение позвонков имело множественный характер. Помимо позвоночника у 6 (50 %) отмечалось метастазирование в другие плоские кости скелета, а у 4 (34 %) – висцеральные метастазы.

Для оценки неврологического статуса и состояния пациентов использовали шкалы Frankel и Karnofsky, интенсивность болевого синдрома оценивали по визуально аналоговой шкале боли (ВАШ), для оценки нестабильности в пораженном позвоночно-двигательном сегменте пользовались

шкалой SINS. Все пациенты обследовались в день поступления, при выписке и через каждые 3 месяца после завершения курса лучевой терапии. Всем пациентам до лечения выполнялась компьютерная (КТ) и магнитно-резонансная томография (МРТ) позвоночного столба, послеоперационная оценка локального контроля осуществлялась с использованием позитронно-эмиссионной томографии – компьютерной томографии (ПЭТ-КТ) с 18F-фтордезоксиглюкозой (18-ФДГ) (рис. 1).

Облучение проводилось на линейном ускорителе Novalis Tx, Varian. Предварительно выполнялась топометрическая томография на компьютерном томографе Siemens Somatom, обработка предварительной топометрии на станции виртуальной симуляции Singo Via. Для иммобилизации и воспроизводимости укладки пациента использовался вакуумный матрас для всего тела с бордом ArmShuttle. С помощью программного обеспечения

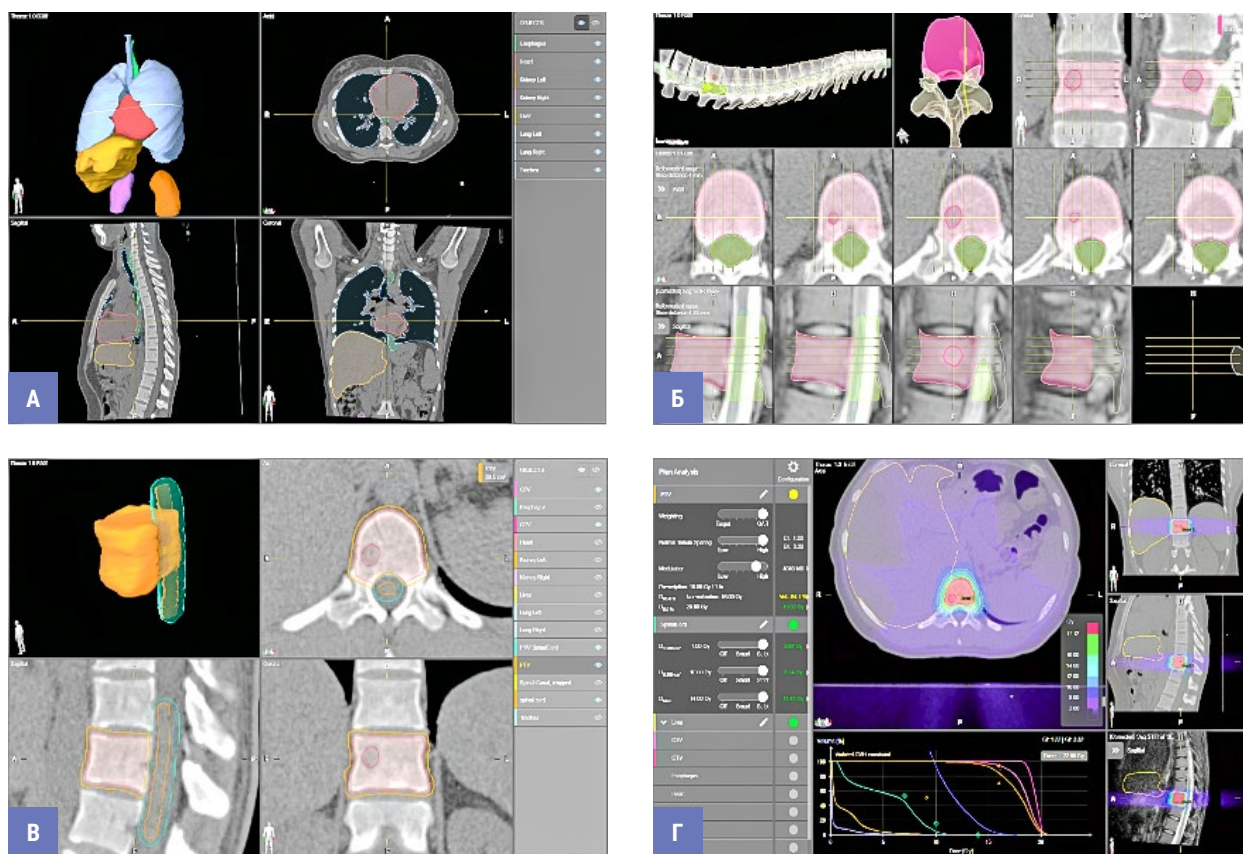


Рис. 2. Планирование облучения. А – анатомическая сегментация и оконтуривание критических органов и структур; Б – оконтуривание объема GTV по изображениям различных модальностей и формирование объема CTV; В – оконтуривание спинного мозга и формирование объема PTV; Г – дозиметрическое планирование с контролем покрытия мишени и нагрузки на критические органы и структуры с последующим анализом рассчитанного плана облучения

Elements Brainlab производилось сегментирование, оконтуривание и формирование 3D-плана лечения для линейного ускорителя. Укладка и контроль положения пациента выполнялись по ортогональным рентгеновским снимкам с помощью системы позиционирования ExacTrac X-Ray Monitoring BrainLab. Верификация рассчитанного плана стереотаксического радиотерапевтического лечения проводилась на фантоме StereoPHAN с матрицей детекторов SRS Marcheck. Перед сеансом радиохирургического лечения выполнялась проверка калибровки ускорителя по абсолютной дозе и проверка калибровки системы позиционирования. Доставка дозы осуществлялась с использованием динамической объемно-модулированной методики (VMAT).

Клинический объем опухоли (CTV) определялся в соответствии с International Spine Radiosurgery Consortium Consensus Guidelines [4]. Планируемый объем опухоли (PTV) вычислялся путем добавления 2-миллиметрового края к границам CTV с вычетом объема PRV (planning risk volume) для спинного мозга (+ 3 мм к краю спинного мозга во всех направлениях) и учетом расположения органов риска (ротоглотки, пищевода и т. д.) (рис. 2).

Для каждой группы показателей определяли тип распределения данных (построение гистограмм по критерию согласия Колмогорова – Смирнова). Если применение критерия показывало нормальное распределение данных для описания использовали среднее, ошибку среднего ($M \pm m$). При отличии распределения от нормального закона для описания использовали значения медианы, 1-го и 3-го квартилей ($Me [Q1; Q3]$). Пороговый уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У 12 пациентов проведено облучение 19 метастатических опухолей позвонков.

Большинство пациентов (80 %, $n = 10$) прошли 1 курс лучевой терапии, 20 % больных получили 2 курса облучения. При этом облучение одного позвонка выполнено 8 (67 %) больным, 4 (33 %) получили облучение двух и более сегментов позвоночного столба. Методика SBRT была применена у 6 (50 %) больных, РХ (SRS) использована у 4 (34 %) пациентов. У 2 (17 %) больных на различных пораженных сегментах позвоночного столба применялась и SBRT, и SRS методики облучения.

Проводимая лучевая терапия была частью комплексного лечения у 10 (83 %) больных, комбинированного – у 2 (17 %).

Средняя продолжительность наблюдения составила $12,18 \pm 2,23$ мес. Радиологический локальный контроль (полный, частичный ответ и стабилизация заболевания по критериям RECIST) был достигнут у 11 (92 %) больных в течение 6 мес., у 10 (83 %) – в течение 1 года. Прогрессирование основного заболевания за период наблюдения отмечено у 6 (50 %) больных. Средняя выживаемость до прогрессирования составила $9,11 \pm 2,69$ мес. Уменьшение болей в спине после облучения отметили 8 (67 %) больных, случаев нарастания болевого синдрома отмечено не было.

ОБСУЖДЕНИЕ

Стереотаксическая лучевая терапия и радиохирurgia показывают высокую эффективность в лечении метастатических опухолей позвонков. Одной из первоочередных целей облучения опухолей, не сдавливающих спинной мозг, является лечение болевого синдрома. Vargo J. A. и соавт. [5] предлагают применять те или иные режимы облучения в зависимости от цели проводимого лечения. Если основной задачей является облегчение болевого синдрома, то предпочтение отдается облучению за 1 фракцию (16–18 Гр). Для достижения долгосрочного локального контроля предпочтение отдается фракционированным режимам СЛТ (8–9 Гр × 3 фр., или 6–7 Гр × 5 фр.).

Рандомизированные исследования противоболевого эффекта лучевой терапии, проведенной пациентам по методикам однофракционной СЛТ (16–18 или 24 Гр) и моно- многофракционной КЛТ (8 Гр за 1 фракцию или 30 Гр за 10 фракций) показали отсутствие достоверной разницы между группами больных через 3 мес. после лечения, и достоверно лучший эффект СЛТ через 6 мес. [6, 7]. Ограничением данных исследований стало поражение не более чем 2 смежных позвонков и наличие расстояния не менее 3 мм между краем опухоли и спинным мозгом (не более 1b степени ESCC), в противном случае группы не поддавались рандомизации. Sahgal A. и соавт. [8] в ходе рандомизированного многоцентрового исследования также отметили преимущества СЛТ (двухфракционная по 24 Гр) над КЛТ (20 Гр в 5 фракциях) в эффективности против болевого синдрома при метастатическом поражении позво-

ночника даже в течении первых 3 месяцев после лечения. Результаты рандомизированных исследований по сравнению эффективности КЛТ и СЛТ методик в отношении локального контроля опухоли на сегодняшний день в литературе отсутствуют. Мета-анализ, проведенный Singh R. и соавт. [9], включающий 3237 больных, показал наличие локального контроля опухоли у 92,9 % пациентов после однофракционной СЛТ (РХ) против 81 % после КЛТ или 82,1 % после многофракционной КЛТ.

Локальное облучение не предотвращает прогрессирование основного заболевания, поэтому оно должно применяться в комбинации с химиотерапевтическим лечением. В период наблюдения прогрес-

сирование отмечено у 50 % пациентов, в то время как локальный контроль достигнут к концу первого года после завершения курса облучения у 83 %.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Стереотаксическая лучевая терапия и радиохирurgia метастатических опухолей позвонков без компрессии невральных структур обеспечивает локальный контроль опухоли у 92 % больных в течение 6 мес. и у 83 % пациентов в течение 1 года, регресс болевого синдрома после облучения – у 67 % больных.

Список источников

1. Заборовский Н. С., Пташников Д. А., Топузов Э. Э., Левченко Е. В., Михайлов Д. А., Наталенко К. Е. Эпидемиология опухолей позвоночника у пациентов, получивших специализированную ортопедическую помощь. *Травматология и ортопедия России*. 2019;25(1):104–112. <https://doi.org/10.21823/2311-2905-2019-25-1-104-112>, EDN: ZELXRB
2. Арсеньев А. И., Канаев С. В., Новиков С. Н., Барчук А. А., Пономарева О. И., Антипов Ф. Е. и др. Стереотаксическая лучевая терапия в лечении первичных и метастатических опухолевых поражений позвоночника. *Вопросы онкологии*. 2022;68(4):413–426. <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2022-68-4-413-426>, EDN: EYPWKT
3. Голанов А. В., Горлачев Г. Е., Антипина Н. А., Коновалов Н. А., Шевелев И. Н., Ветлова Е. Р. и др. Стереотаксическое облучение объемных образований спинного мозга и позвоночника с использованием системы КиберНож. *Вопросы нейрохирургии им. Н. Н. Бурденко*. 2012;76(1):54-63. EDN: PDXHUL
4. Cox BW, Spratt DE, Lovelock M, Bilsky MH, Lis E, Ryu S, et al. International Spine Radiosurgery Consortium consensus guidelines for target volume definition in spinal stereotactic radiosurgery. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2012 Aug 1;83(5):e597-605. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2012.03.009>
5. Heron DE, Saiful Huq M, Herman JM. Stereotactic radiosurgery and stereotactic body radiation therapy (SBRT). Vargo JA, Mihai A, Engh JA et al. *Spine SBRT*. New York: Demos, 2018:279–292.
6. Sprave T, Verma V, Förster R, Schlamp I, Bruckner T, Bostel T, et al. Randomized phase II trial evaluating pain response in patients with spinal metastases following stereotactic body radiotherapy versus three-dimensional conformal radiotherapy. *Radiother Oncol*. 2018 Aug;128(2):274–282. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2018.04.030>
7. Ryu S, Deshmukh S, Timmerman R, Movsas B, Gerszten P, Yin F, et al. Radiosurgery Compared To External Beam Radiotherapy for Localized Spine Metastasis: Phase III Results of NRG Oncology/RTOG 0631. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2019 Aug 1;105(1):S2–3.
8. A, Myrehaug SD, Siva S, Masucci GL, Maralani PJ, Brundage M, et al. Stereotactic body radiotherapy versus conventional external beam radiotherapy in patients with painful spinal metastases: an open-label, multicentre, randomised, controlled, phase 2/3 trial. *Lancet Oncol*. 2021 Jul;22(7):1023–1033. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(21\)00196-0](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(21)00196-0)
9. Singh R, Lehrer EJ, Dahshan B, Palmer JD, Sahgal A, Gerszten PC, et al. Single fraction radiosurgery, fractionated radiosurgery, and conventional radiotherapy for spinal oligometastasis (SAFFRON): A systematic review and meta-analysis. *Radiother Oncol*. 2020 May;146:76–89. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2020.01.030>

Информация об авторах:

Кит Олег Иванович – академик РАН, д.м.н., профессор, генеральный директор, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 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., докторант отделения нейроонкологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0925-415X>, SPIN: 7298-0181, AuthorID: 703429

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

Сакун Павел Георгиевич – к.м.н., заведующий отделением радиотерапии № 2, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8061-6259>, SPIN: 3790-9852, AuthorID: 734600, Scopus Author ID: 56531945400

Вошедский Виталий Игоревич – к.м.н., врач-радиотерапевт отделения радиотерапии № 2, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1405-8329>, SPIN: 4732-4005, AuthorID: 1032685, ResearcherID: Q-6122-2019, Scopus Author ID: 57215970384

Командиров Максим Александрович – медицинский физик отделения радиотерапии №2, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-0273-9737>, SPIN: 9331-1278, AuthorID: 843316, Scopus Author ID: 36952848600

Вклад авторов:

Кит О. И. – разработка дизайна исследования, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания, окончательное утверждение публикуемой версии рукописи;
Закондырин Д. Е. – разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, написание текста рукописи;
Росторгуев Э. Е. – обзор публикаций по теме статьи, набор клинического материала, интерпретация результатов;
Сакун П. Г. – сбор, анализ и интерпретация данных, техническое редактирование;
Вошедский В. И. – разработка дизайна исследования, анализ полученных данных;
Командиров М. А. – сбор, интерпретация данных, техническое редактирование.

Звенья фибринолитической системы у мышей с нокаутом по гену урокиназы на фоне роста меланомы B16/F10

Е. М. Франциянц¹, В. А. Бандовкина¹✉, Е. И. Сурикова¹, И. В. Каплиева¹, Ю. А. Погорелова¹,
И. В. Нескубина¹, Л. К. Трепитаки¹, Н. Д. Черярина¹, Н. Д. Ушакова¹, О. Г. Ишонина^{1,2},
М. А. Гусарева¹, И. А. Удаленкова¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

² ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

✉ valerryana@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучение влияния нокаута по гену урокиназы у мышей обоего пола с перевитой меланомой B16/F10 на функционирование звеньев фибринолитической системы.

Материалы и методы. Были использованы мыши обоего пола: основная группа генмодифицированная линия C57BL/6-Plautm1.1Bug – ThisPlauGFDhu/GFDhu (uPA^{-/-}); группа контроля – линия C57Bl/6 (uPA^{+/+}). Животным по стандартной методике перевивали меланому B16/F10 и через 3 недели роста в 10 % гомогенатах опухоли и ее перифокальной зоне ИФА методом определяли уровень: плазминогена (ПГ), плазмина (РАР), рецептора урокиназы uPAR, содержание (АГ) и активность (акт) uPA, t-PA и PAI-I (Cussabio, Китай).

Результаты. У интактных животных uPA^{-/-} в коже оказалась существенно подавлена, по сравнению с uPA^{+/+} активность и содержание урокиназы (в 100–860 раз), однако у самок не изменился уровень uPAR, тогда как у самцов снизился в 1,9 раза. Уровень плазмина у uPA^{-/-} мышей был выше в 2,1–4,2 раза, по сравнению с uPA^{+/+} животными. Рост меланомы B16/F10 у uPA^{-/-} мышей был замедлен, тормозилось метастазирование, однако не увеличивалась продолжительность жизни. Динамика изменений компонентов фибринолитической системы при росте меланомы у uPA^{-/-} мышей отличалась от uPA^{+/+}: в образцах опухоли снижался уровень РАР более чем в 2 раза, не повышался уровень и активность uPA, практически не реагировала PAI, однако, как и у uPA^{+/+} возрастала активность t-PA в 3,8–8,2 раза.

Заключение. Несмотря на подавление роста первичного узла опухоли и процессов метастазирования у мышей uPA^{-/-}, средняя продолжительность жизни не увеличивалась, что свидетельствует о сложных механизмах опухолевой болезни и наличии альтернативных биологических путей, позволяющих меланоме прогрессировать в условиях нокаута гена урокиназы.

Ключевые слова: нокаут по гену урокиназы, мыши, меланома B16/F10, фибринолитическая система

Для цитирования: Франциянц Е. М., Бандовкина В. А., Сурикова Е. И., Каплиева И. В., Погорелова Ю. А., Нескубина И. В., Трепитаки Л. К., Черярина Н. Д., Ушакова Н. Д., Ишонина О. Г., Гусарева М. А., Удаленкова И. А. Звенья фибринолитической системы у мышей с нокаутом по гену урокиназы на фоне роста меланомы B16/F10. Южно-Российский онкологический журнал. 2024; 5(2):14-24. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-2-2>, <https://elibrary.ru/incomr>

Для корреспонденции: Бандовкина Валерия Ахтямовна – д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14 линия, д. 63
E-mail: valerryana@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2302-8271>
SPIN: 8806-2641, AuthorID: 696989
ResearcherID: AAG-8708-2019
Scopus Author ID: 57194276288

Соблюдение этических стандартов: работа с животными проводилась в соответствии с правилами «Европейской конвенции о защите животных, используемых в экспериментах» (Директива 86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, а также в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» и приказом Минздрава России от 19.06.2003 г. № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики». Комиссией по биоэтике ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации от 24.12.2019 г., был одобрен протокол исследования (протокол этического комитета № 15/75) по работе с мышами линии Balb/c Nude

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось

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

Статья поступила в редакцию 13.10.2023; одобрена после рецензирования 01.04.2024; принята к публикации 09.05.2024

© Франциянц Е. М., Бандовкина В. А., Сурикова Е. И., Каплиева И. В., Погорелова Ю. А., Нескубина И. В., Трепитаки Л. К., Черярина Н. Д., Ушакова Н. Д., Ишонина О. Г., Гусарева М. А., Удаленкова И. А., 2024

Units of fibrinolytic system in mice with urokinase gene knockout in presence of growing B16/F10 melanoma

E. M. Frantsiyants¹, V. A. Bandovkina¹✉, E. I. Surikova¹, I. V. Kaplieva¹, Yu. A. Pogorelova¹, I. V. Nes Kubina¹, L. K. Trepitaki¹, N. D. Cheryarina¹, N. D. Ushakova¹, O. G. Ishonina^{1,2}, M. A. Gusareva¹, I. A. Udalenkova¹

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

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

✉ valerryana@yandex.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. Was to reveal the effect of urokinase gene knockout in male and female mice with transplanted B16/F10 melanoma on the functions of the fibrinolytic system units.

Materials and methods. Male and female mice were used: main group with genetically modified mice C57BL/6-Plautm1.1Bug – ThisPlauGFDhu/GFDhu (uPA^{-/-}); control group with C57BL/6 (uPA^{+/+}) mice. B16/F10 melanoma was transplanted by the standard methods to the animals, and levels of plasminogen (PG), plasmin (PAP), urokinase receptor uPAR, content (AG) and activity (act) of uPA, t-PA and PAI-I were measured with ELISA (Cussabio, China) in 10 % tumor homogenates and peritumoral area after 3 weeks of tumor growth.

Results. The activity and levels of urokinase in intact uPA^{-/-} animals were significantly (by 100–860 times) inhibited, compared to uPA^{+/+}, but uPAR levels were unchanged in females and were 1.9 times lower in males. PAP levels in uPA^{-/-} mice were 2.1–4.2 times higher than in uPA^{+/+} animals. The growth of B16/F10 melanoma in uPA^{-/-} mice was slower and metastasizing was suppressed, but their survival was not improved. The dynamics of changes in components of the fibrinolytic system in presence of melanoma growth differed in uPA^{-/-} mice, compared to uPA^{+/+} animals: PAP levels in tumor samples decreased by over 2 times, uPA levels and activity were not increased, PAI was practically unchanged, but activity of t-PA elevated by 3.8–8.2 times, as well as in uPA^{+/+} mice.

Conclusion. Despite the suppression of the growth and metastasis of the primary tumor nodes in uPA^{-/-} mice, their average survival was not improved, which indicates that the mechanisms of tumor are complex and there are alternative biological pathways supporting melanoma to survive in conditions of the urokinase gene knockout.

Keywords: urokinase gene knockout, mice, melanoma B16/F10, fibrinolytic system

For citation: Frantsiyants E. M., Bandovkina V. A., Surikova E. I., Kaplieva I. V., Pogorelova Yu. A., Nes Kubina I. V., Trepitaki L. K., Cheryarina N. D., Ushakova N. D., Ishonina O. G., Gusareva M. A., Udalenkova I. A. Units of fibrinolytic system in mice with urokinase gene knockout in presence of growing B16/F10 melanoma. South Russian Journal of Cancer. 2024; 5(2):14-24. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-2-2>, <https://elibrary.ru/incomr>

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

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

E-mail: valerryana@yandex.ru

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

SPIN: 8806-2641, AuthorID: 696989

ResearcherID: AAG-8708-2019

Scopus Author ID: 57194276288

Compliance with ethical standards: the work with animals was carried out in compliance with the rules of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (Directive 86/609/EEC) and the Helsinki Declaration, as well as in compliance with the International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals, and Order No. 267 of the Ministry of Health of the Russian Federation dated 06/19/2003 "On approval of the rules for laboratory practice". The Bioethics Commission of the National Medical Research Center of Oncology dated 12/24/2019, approved the research protocol (Protocol of the Ethical Committee No. 15/75) on working with Balb/c Nude mice

Funding: this work was not funded

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

The article was submitted 13.10.2023; approved after reviewing 01.04.2024; accepted for publication 09.05.2024

ВВЕДЕНИЕ

Фибринолитическая система считается одним из ведущих механизмов канцерогенеза, за счет разрушения клеточных мембран, пролиферации, миграции и инвазии клеток [1].

Активаторы плазминогена урокиназного типа (uPA) и тканевого типа (t-PA) представляют собой сериновые протеазы, которые превращают плазминоген в плазмин после связывания с рецептором uPA (uPAR) [2]. uPA обнаруживают на поверхности опухолевых клеток, а его сверхэкспрессия на конечной стадии трансформации злокачественных клеток, способствует процессам метастазирования [3]. Активация фибринолитической системы и образование плазмина стимулирует металлопротеиназы, ангиогенные факторы роста, что разрушает физический барьер на пути миграции опухолевых клеток и стимулирует рост опухоли [4].

Ряд исследователей считают, что понимание молекулярных механизмов биологического действия системы плазмин/плазминоген и ингибирования ангиогенеза посредством блокирования сериновых протеаз может позволить улучшить терапевтические стратегии для регуляции роста злокачественных опухолей и нарушений, связанных с неоваскуляризацией [5, 6].

Ранее было показано, что у мышей линии C57Bl/6 с диким типом генов в динамике роста перевивной меланомы B16/F10 происходят изменения звеньев фибринолитической системы кожи, характеризующиеся повышенной активностью всех компонентов системы активации плазминогена, приводящей к повышенному содержанию в ней плазмина, а коморбидное заболевание – хроническая нейрогенная боль – оказывает модифицирующее влияние на исследованные показатели [7–9].

Экспериментальные модели опухолей дают возможность выяснить причины, изучить патогенез опухолевого процесса, разработать методы его профилактики и лечения, при этом обоснованным является использование различных линий животных, в том числе с генетически детерминированными характеристиками [10]. Модели генно-инженерных мышей успешно используются на протяжении десятилетий при моделировании опухолевого процесса [11]. Существуют определенные типы трансгенных мышей, используемые в исследованиях злокачественного процесса, у которых онкогены могут быть конститутивно или условно

экспрессированы. В таких животных моделях гены-супрессоры опухолей могут быть подавлены с использованием традиционных методов, таких как ретровирусная инфекция, микроинъекция ДНК-конструкций и так называемый «направленный на гены» трансгенный подход. На сегодняшний день трансгенные модели стали традиционными и успешно применяются в исследованиях канцерогенеза [12].

Для нас наибольший интерес представляли мыши с нокаутом гена uPA, полученные с помощью молекулярно-генетического метода, в ходе которого изменения вносятся в нуклеотидную последовательность гена uPA, в результате чего урокиназа не связывается рецептором активатора плазминогена урокиназного типа (uPAR). Данные животные-мутанты могут использоваться в изучении процессов воспаления, онкогенеза, механизмов фибринолиза в опухоли и окружающих тканях.

Цель исследования: изучение влияния нокаута по гену урокиназы у мышей обоего пола с перевивной меланомой B16/F10 на функционирование звеньев фибринолитической системы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании были использованы генмодифицированные самки и самцы мышей линии C57BL/6-Plautm1.1Bug – ThisPlauGFDhu/GFDhu (uPA^{-/-}) с начальной массой самок 24–26 г, самцов – 31–33 г, полученные из питомника лабораторных животных «Пушино» Филиала Института биорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова (Пушино, Московская область). Животные с нокаутом по гену урокиназы (uPA^{-/-}) могут использоваться в исследованиях хронического воспаления ткани, механизмов фибринолиза, онкогенеза и роста сосудов в опухоли и окружающей ее ткани. В качестве контроля использовали мышей обоего пола линии C57BL/6 (uPA^{+/+}) с начальной массой 21–23 г полученных из ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий «Андреевка» ФМБА» (Московская область). Животных содержали при естественном режиме освещения со свободным доступом к воде и пище. Исследование было проведено в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» и приказом Минздрава РФ № 267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики».

Исследование выполнено на 64 самцах и 64 самках мышей. Животные были разделены на группы по 10 особей в каждой: интактные самки и самцы линии C57BL/6 (uPA+/+); интактные самки и самцы линии C57BL/6-Plautm1.1Bug – ThisPlauGFDhu/GFDhu (uPA-/-); контрольная группа самки и самцы линии C57BL/6 (uPA+/+) через 3 недели после перевивки меланомы B16/F10; основная группа самки и самцы линии C57BL/6-Plautm1.1Bug – ThisPlauGFDhu/GFDhu (uPA-/-) через 3 недели после перевивки меланомы B16/F10. Срок исследования – через 3 недели после перевивки меланомы B16/F10 – был выбран, так как это был этап массовой гибели для самцов мышей и начало гибели самок, кроме того через 3 недели были отмечены максимальные отличия в средних объемах опухоли у животных uPA-/- и uPA+/+ линий. Отдельно были выделены группы uPA-/- (по 12 особей каждого пола) и uPA+/+ (по 25 особей каждого пола) животных для исследования средней продолжительности жизни.

В работе использовали клеточную линию мышечной, метастазирующей в легкие меланомы B16/F10, полученную из РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (г. Москва). Меланома B16/F10 перевивалась путем подкожного введения 0,5 мл взвеси опухолевой ткани в физиологическом растворе (1:10) в правую заднюю лапу мыши по стандартной методике [13]. При стандартной перевивке опухоль появляется в 100 % случаев, достаточно быстро растет и на 12–16 сутки роста метастазирует преимущественно гематогенно в легкие (60–90 %), реже – в печень и селезенку [14]. Для проведения эксперимента использовали второй пассаж перевивки меланомы B16/F10 мышам линии C57BL/6.

Рост опухоли оценивали путем ежедневного измерения диаметров ее в трех взаимно перпендикулярных областях, с последующим расчетом объема опухоли как произведение трех ее замеров.

Интактных животных, а также мышей контрольных и основных групп через 3 недели после перевивки меланомы декапитировали, на холоде выделяли: опухоль, перифокальную зону, кожу. Образцы механически гомогенизировали, из тканей получали 10 % гомогенаты, приготовленные на 0,1М калий-фосфатном буфере pH 7.4, содержащем 0,1 % Твин-20 и 1 % БСА В гомогенатах тканей иммуноферментными методами определяли уровень: плазминогена (РГ), плазмина (РАР), рецептора урокиназы uPAR, содержание (АГ) и активность (акт) uPA, t-PA и PAI-I (Cussabio, Китай).

Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи программы Statistica 10.0. Для всех количественных данных вычисляли групповое среднее арифметическое (M) и стандартную ошибку (m). Все полученные результаты были проверены на соответствие закону о нормальном распределении (критерий Шапиро-Уилка (для малых выборок)). При соответствии выборки нормальному распределению использовали параметрическую статистику (критерий Стьюдента), при несоответствии – использовали непараметрическую статистику (критерии Вилкоксона-Манна-Уитни). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установлено, что процесс канцерогенеза у генемодифицированных самок мышей (uPA-/-) по сравнению с контролем (uPA+/+) имел особенности, заключающиеся в сокращении доклинического периода развития меланомы и снижении средних объемов опухолевых узлов на всех этапах наблюдения (с 1 по 4 нед.). У самок опытной группы диагностировали единичные метастазы в легких, тогда как в контроле наблюдалось метастатическое поражение легких и печени. У самцов опухоли характеризовались достаточно активным, «скачкообразным» ростом, а их средний объем на 4 неделе после перевивки не отличался от таковых значений у мышей с нормальным геномом. У самцов uPA-/- на всех этапах роста перевивной меланомы B16/F10 видимые метастазы во внутренние органы не выявлены, однако обнаружены кровоизлияния в легкие. Средняя продолжительность жизни у мышей uPA-/- и uPA+/+ не имела значимых отличий и составила у самок $34,67 \pm 0,67$ против $30,25 \pm 1,67$, а у самцов $23,33 \pm 3,18$ против $22,1 \pm 0,82$ соответственно [15].

Исходя из полученных ранее результатов различий в росте злокачественных опухолей у животных с нокаутом гена урокиназы и диким типом гена представляло интерес выяснить, какие отличия в содержании и активности основных звеньев фибринолитической системы кожи характерны для животных с нокаутом по гену урокиназы (табл. 1, 2).

По сравнению с животными контрольной группы в коже интактных мышей uPA -/- обоего пола регистрировались только следы uPA: отмечено снижение уровней содержания и активности uPA

в 100–860 раз (табл. 1, 2). У интактных самок uPA-/- привлекает внимание высокое содержание PАР, превосходящее в 4,2 раза тот же показатель у самок мышей uPA+/+ при сниженном в 1,3 раза ($p < 0,05$) содержании ПГ.

У интактных uPA-/- самцов в коже были повышены концентрации как PАР в 2,1 раза, так и в 1,8 раза ПГ по сравнению с показателями в коже интактных мышей uPA+/+ (табл. 2).

В условиях дефицита uPA при высоком содержании PАР ожидалось возрастание уровня второго активатора ПГ – tРА, однако содержание и активность его была снижена только у самцов uPA-/- в 4,3 раза и в 1,7 раза соответственно. У самок uPA-/- выявлено снижение относительно данных

у мышей uPA+/+ только активности tРА в 2,5 раза, несмотря на повышение его содержания в 1,7 раза.

Количество рецептора uPAR у uPA-/- мышей-самок было на том же уровне, что и у мышей uPA+/+, тогда как у самцов оказалось снижено в 1,9 раза. Значительные различия с нормой замечены и по PAI-I: у самок uPA-/- активность PAI-I и его содержание оказались ниже нормы в 15,0 и 3,0 раза соответственно, у самцов в 4,9 раза и в 9,8 раза соответственно.

Так как средние размеры опухоли у самок мышей uPA-/- через 3 недели эксперимента были меньше, чем у самок uPA+/+ [15], далее провели сравнительный анализ звеньев фибринолитической системы в образцах меланомы животных с нокаутом и мышей с диким типом генома.

Таблица 1. Содержание и активность компонентов фибринолитической системы в коже, опухоли и перифокальной зоне у самок мышей uPA -/- с меланомой B16/F10 через 3 недели после перевивки ($M \pm m$)

Показатели	Кожа интактных животных (норма)	Кожа через 3 недели роста меланомы	Опухоль через 3 недели после перевивки	Перифокальная зона через 3 недели после перевивки
Самки uPA -/-				
uPA-акт (ед/г тк)	0,010 ± 0,001 ³	0,009 ± 0,0009 ^{2,3}	0,025 ± 0,002 ³	0,01 ± 0,001 ³
uPA-АГ (нг/г тк)	0,220 ± 0,02 ³	0,24 ± 0,018 ^{2,3}	0,14 ± 0,011 ^{1,3}	0,73 ± 0,06 ^{1,2,3}
uPAR (пг/г тк)	58,20 ± 4,3	56,2 ± 4,7	66,2 ± 5,3 ³	59,5 ± 5,3 ³
PАР (нг/г тк)	45,0 ± 3,4 ³	18,75 ± 1,6 ¹	19,7 ± 1,4 ^{1,3}	24,4 ± 2,2 ^{1,3}
ПГ (нг/г тк)	7,70 ± 0,6 ³	10 ± 0,97 ^{1,3}	8 ± 0,77 ³	20 ± 1,7 ^{1,2,3}
tРА-акт (ед/гтк)	0,240 ± 0,02 ³	0,16 ± 0,014 ^{1,2,3}	1,95 ± 0,16 ¹	0,155 ± 0,014 ^{1,2,3}
tРА-АГ (нг/гтк)	0,670 ± 0,05 ³	0,34 ± 0,028 ^{1,2,3}	0,69 ± 0,05 ³	1,55 ± 0,13 ^{1,2,3}
PAI-I-акт (ед/гтк)	1,60 ± 0,1 ³	1,85 ± 0,15 ^{2,3}	3,05 ± 0,29 ^{1,3}	5,25 ± 4,4 ^{1,2,3}
PAI-I-АГ (нг/гтк)	3,30 ± 0,3 ³	2,2 ± 0,17 ^{1,3}	2,7 ± 0,24 ³	2,8 ± 0,22 ³
Самки uPA +/+				
uPA-акт (ед/г тк)	1,6 ± 0,12	2,5 ± 0,2 ¹	2,8 ± 0,19 ¹	2,6 ± 0,17 ¹
uPA-АГ (нг/г тк)	31,7 ± 2,1	187,5 ± 13 ^{1,2}	335,5 ± 23 ¹	186,5 ± 12,5 ^{1,2}
uPAR (пг/г тк)	56,06 ± 4,5	65,36 ± 5,6 ²	141,8 ± 11,7 ¹	112,0 ± 9,6 ¹
PАР (нг/г тк)	10,7 ± 0,7	19,9 ± 1,1 ^{1,2}	36,4 ± 1,5 ¹	18,9 ± 1,2 ^{1,3}
ПГ (нг/г тк)	10,25 ± 0,9	13,5 ± 1,1 ¹	16,7 ± 1,4 ¹	11,03 ± 0,9
tРА-акт (ед/гтк)	0,6 ± 0,04	0,7 ± 0,03 ²	2,2 ± 0,19 ¹	0,7 ± 0,06 ³
tРА-АГ (нг/гтк)	0,4 ± 0,02	2,0 ± 0,15 ^{1,2}	12,3 ± 0,9 ¹	2,5 ± 0,13 ^{1,3}
PAI-I-акт (ед/гтк)	24,0 ± 0,16	24,0 ± 1,4 ²	71,1 ± 4,2 ¹	81,0 ± 5,8 ¹
PAI-I-АГ (нг/гтк)	9,9 ± 0,4	24,5 ± 1,8 ^{1,2}	79,5 ± 6,3 ¹	71,6 ± 5,2 ¹

Примечание: ¹ – различия статистически значимы относительно нормы у животных; ² – по сравнению с опухолью; ³ – по сравнению с аналогичными образцами у uPA+/+ животных ($p < 0,05$)

В образцах опухоли у самок uPA-/- по сравнению с образцами опухоли самок uPA+/+ оказались существенно ниже показатели определяемых факторов: активность и содержание uPA в 112 раз и в 2396 раз, уровень uPAR в 2,1 раза, PAP и ПГ в 1,8 раза и 2,1 раза, содержание tPA в 17,8 раза, активность и содержание PAI-I в 23,3 раза и в 29 раза соответственно. Только активность tPA не имела значимых отличий в образцах опухоли в зависимости от гена урокиназы.

То есть через 3 недели после перевивки меланомы В16/F10 у самок uPA+/+ в образцах опухоли по сравнению с соответствующей интактной кожей отмечено возрастание всех изученных показателей фибринолитической системы, тогда как у самок

uPA-/- в образцах меланомы такая стимуляция не выявлена, за исключением роста активности, но не содержания tPA.

Также были отмечены различия исследованных показателей в перифокальной зоне и непокрашенной опухолевым ростом коже. Так, в перифокальной зоне у самок uPA-/- через 3 недели роста меланомы активность и уровень uPA были меньше, чем в перифокальной зоне мышей uPA+/+ в 260 и 255 раз соответственно, также была ниже в 1,9 раза концентрация uPAR. Уровень tPA, как и его активность, были ниже, чем у животных без нокаута в 1,6 раза и в 4,5 раза соответственно. Активность PAI-I и его содержание оказались сниженными в 15,4 раза и в 25,6 раза. Несмотря на

Таблица 2. Содержание и активность компонентов фибринолитической системы в коже, опухоли и перифокальной зоне у самцов мышей uPA -/- с меланомой В16/F10 через 3 недели после перевивки ($M \pm m$)

Показатели	Кожа интактных животных (норма)	Кожа через 3 недели роста меланомы	Опухоль через 3 недели после перевивки	Перифокальная зона через 3 недели после перевивки
Самцы uPA -/-				
uPA-акт (ед/г тк)	0,010 ± 0,001 ³	0,009 ± 0,0007 ^{2,3}	0,013 ± 0,0011 ^{1,3}	0,015 ± 0,001 ^{1,3}
uPA-АГ (нг/г тк)	0,250 ± 0,02 ³	0,25 ± 0,018 ^{2,3}	0,10 ± 0,009 ^{1,3}	0,39 ± 0,03 ^{1,3}
uPAR (пг/г тк)	56,90 ± 4,3 ³	67,4 ± 5,9	90,8 ± 7,6 ¹	67,55 ± 5,5 ²
PAP (нг/г тк)	30,0 ± 2,5 ³	18,13 ± 1,4 ^{1,3}	14,4 ± 0,9 ^{1,3}	18,13 ± 1,7 ¹
ПГ (нг/г тк)	12,50 ± 0,9 ³	9,1 ± 0,77 ^{1,3}	10 ± 0,07 ³	12,2 ± 0,8
tPA-акт (ед/гтк)	0,320 ± 0,02 ³	0,17 ± 0,015 ^{1,2,3}	1,22 ± 0,78 ^{1,3}	0,17 ± 0,014 ^{1,2,3}
tPA-АГ (нг/гтк)	0,70 ± 0,05 ³	0,66 ± 0,06 ^{2,3}	0,46 ± 0,04 ^{1,3}	0,88 ± 0,071 ^{2,3}
PAI-I-акт (ед/гтк)	2,60 ± 0,2 ³	1,77 ± 0,13 ^{1,2,3}	2,87 ± 0,21 ³	2,37 ± 0,18 ³
PAI-I-АГ (нг/гтк)	4,10 ± 0,3 ³	2,43 ± 0,21 ^{1,2,3}	3,9 ± 0,33 ³	4,8 ± 0,43 ³
Самцы uPA +/+				
uPA-акт (ед/г тк)	1,561 ± 0,10	1,65 ± 0,143	2,7 ± 0,21	1,9 ± 0,17
uPA-АГ (нг/г тк)	215,3 ± 16,8	181,6 ± 17,1 ³	300,4 ± 24	210,3 ± 19
uPAR (пг/г тк)	110,3 ± 6,5	65,13 ± 5,7 ¹	73,48 ± 5,3 ¹	85,96 ± 7,2 ¹
PAP (нг/г тк)	14,52 ± 0,9	30,7 ± 2,9	48,8 ± 4,1	19,8 ± 1,7
ПГ (нг/г тк)	6,851 ± 0,5	15 ± 1,2	21,6 ± 1,9	13 ± 1,1
tPA-акт (ед/гтк)	0,551 ± 0,04	0,86 ± 0,07	2,4 ± 0,19	0,8 ± 0,06
tPA-АГ (нг/гтк)	2,981 ± 0,2	4,8 ± 0,38 ¹	11,6 ± 0,9	5,5 ± 0,42
PAI-I-акт (ед/гтк)	12,61 ± 1,02	52,5 ± 4,7	41,3 ± 3,8	59,4 ± 5,6
PAI-I-АГ (нг/гтк)	40,0 ± 3,5	28 ± 2,5	39 ± 3,4	54,8 ± 4,5

Примечание: ¹ – различия статистически значимы относительно нормы у животных; ² – по сравнению с опухолью; ³ – по сравнению с аналогичными образцами у uPA+/+ животных ($p < 0,05$)

это уровень PАР и ПГ в перифокальной зоне самок uPA-/- оказался выше, чем у самок uPA+/+ в 1,3 раза и в 1,8 раза соответственно.

То есть в перифокальной зоне у самок мышей uPA+/+ через 3 недели роста меланомы также практически все звенья фибринолитической системы (за исключением ПГ и tPA активности) превосходили показатели в коже интактных животных, тогда как у uPA-/- мышей в перифокальной зоне по сравнению с кожей интактных животных выявлен рост только содержания ПГ, uPA и tPA без повышения их активностей, а также возросла активность PAI-I.

В непораженной опухолевым ростом коже у самок uPA-/- были снижены практически все показатели фибринолитической системы за исключением отсутствия отличий в PАР и uPAR по сравнению с образцами кожи у самок uPA+/+. Так, в образцах кожи при росте опухоли у самок uPA-/- активность и содержание uPA были ниже в 277,8 раза и в 781,3 раза; активность и содержание tPA в 4,4 раза и в 5,9 раза; активность и содержание PAI-I в 13 раз и 11,4 раза соответственно. Через 3 недели опухолевого роста динамика изменений исследованных показателей в непораженной коже у самок uPA+/+ по сравнению с интактными мышами в целом соответствовала направленности в опухоли и перифокальной зоне – наблюдалась активация фибринолитической системы, тогда как у самок uPA-/-, напротив, либо отсутствие изменений, либо снижение уровня PАР, активности и содержания tPA и содержания PAI-I по сравнению с интактными мышами этой же линии.

На этапе через 3 недели после перевивки объемы первичных опухолей у самцов uPA-/- были меньше, чем у животных с диким типом генов [15].

В образцах опухоли у самцов uPA-/- по сравнению с аналогичными образцами у самцов uPA+/+ оказался снижен уровень плазмينا в 3,4 раза и плазминогена в 2,2 раза (табл. 2). Активность и содержание uPA у самцов с нокаутом гена урокиназы были ниже, чем у животных с диким типом гена в 208 раз и в 3004 раза соответственно, а содержание и активность tPA были ниже в 25,2 раза и в 2 раза соответственно. Кроме того, выявлено снижение активности и концентрации PAI-I в 14,4 раза и в 10 раз соответственно.

Только содержание uPAR не имело отличий в зависимости от состояния гена урокиназы. То есть, если у самцов uPA+/+ в образцах опухоли по сравнению с интактной кожей (норма) возрастали

практически все исследованные параметры фибринолитической системы, за исключением уровня рецептора, то в меланоме у самцов uPA-/- отмечен только рост активности tPA и uPAR.

В перифокальной зоне у самцов uPA-/- по сравнению с перифокальной зоной самцов uPA+/+ были ниже активность и уровень uPA в 127 раз и в 538 раз соответственно и tPA в 25 раз и 11,4 раз соответственно, а PAI-I в 25 раз и 8,8 раза соответственно. При этом уровень uPAR, плазмينا и ПГ в перифокальной зоне не имел значимых отличий в зависимости от состояния гена урокиназы. Оказалось, что при росте опухоли у uPA+/+ самцов в перифокальной зоне повышалось содержание PАР, PГ, а также активности и содержания tPA и PAI-I по сравнению с кожей соответствующих интактных животных, тогда как у самцов uPA-/- либо не изменялись по сравнению с интактной кожей, либо снижались.

В образцах непораженной кожи у самцов uPA-/- с меланомой B16/F10 по сравнению с показателями в непораженной коже у самцов uPA+/+ были ниже концентрации PАР и ПГ в среднем в 1,7 раза, активность и содержание uPA в 183 раза и в 726 раза, активность и содержание tPA в 5,1 раза и в 7,3 раза, активность и концентрация PAI-I в 29,7 раз и в 11,5 раза. Только уровень uPAR не имел значимых отличий. При этом следует отметить, что у uPA+/+ самцов и у мышей с нокаутом по гену урокиназы одинаковым в непораженной коже при росте меланомы оказалось только отсутствие изменения активности и содержания uPA, а также снижение уровня PAI-I по сравнению с показателями здоровой кожи соответствующих интактных животных. Остальные из изученных параметров изменялись разнонаправленно – у uPA-/- самцов либо снижались (PАР, ПГ, tPA активность), либо не изменялись (PAI-I активность, tPA содержание, uPAR), тогда как у uPA+/+ выявлена активация (за исключение uPAR).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время известно, что урокиназа (uPA) секретируется во многих злокачественных клетках, включая рак поджелудочной железы, молочной железы, колоректальный рак и ее экспрессия часто коррелирует с прогнозом течения заболевания [4, 16]. Биологическая роль этой протеиназы – связаться с рецептором uPAR, чтобы стимулировать протеолитический каскад и превратить неактивные

протеазы, такие как плазмин и матриксная металлопептидаза 9 (MMP-9), в активные формы, тем самым наделяя опухолевые клетки способностью разрушать компоненты внеклеточного матрикса, активировать рост и метастазирование опухолевых клеток [17–19]. Следовательно, роль uPA в миграции, инвазии и метастазировании опухолевых клеток несомненна [18].

Ранее мы получили подтверждение влияния нокаута гена урокиназы на опухолевый процесс, а именно существенное подавление роста объема опухоли и ее метастазирование у животных обоего пола [15]. Нами было установлено, что у интактных uPA-дефицитных мышей линии C57BL/6-Plautml.IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu в коже подавлен практически весь каскад регуляторов ПГ (за исключением содержания рецептора урокиназы uPAR и содержания tPA только у самок). Мы предполагали обнаружить увеличение активности ряда ферментов, однако у интактных uPA-/- мышей регистрировалось увеличенное содержание только плазмينا. При дефиците uPA у мышей C57BL/6-Plautml.IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu в нашем эксперименте активность плазмينا могла найти и другие мишени. Мы считаем, что повышение у нокаутных мышей содержания PAR является своеобразной компенсацией, способствуя при резком снижении урокиназы расщеплению ее рецептора.

Несмотря на существенное подавление фибринолитической системы у мышей uPA-/-, перевивная меланома росла, и хотя имела существенно меньшие объемы (особенно у самок) и редко метастазировала (у самцов отсутствовали видимые метастазы), продолжительность жизни животных двух линий не имела значимых различий. Кроме того, уровень плазмينا в коже у интактных uPA-/- мышей превышал показатели у животных линии C57BL/6. Эти моменты свидетельствуют о наличии альтернативных биологических путей которыми «пользуется» меланома для своего выживания в условиях нокаута гена урокиназы.

Одним из альтернативных путей в условиях нокаута гена урокиназы может быть uPAR, известный как CD-87, который высоко экспрессируется в различных опухолевых клетках, а различные сигналы, регулируемые uPAR, играют важную роль в пролиферации и метастазировании неоплазмы, связанном с опухолью гликолизе, а также микроокружении опухоли и ее ангиогенезе [20]. Имеются данные о том, что именно uPAR регулирует миграцию клеток меланомы за счет сборки в сложных

регуляторных единицах с трансмембранными рецепторами [21].

В нашем исследовании показано, что на фоне существенного подавления урокиназы уровень рецептора uPAR в интактной коже у самок не изменился, а у самцов хотя и выявлено почти двукратное снижение его концентрации, однако его содержание в опухоли и окружающих ее тканях на фоне роста меланомы B16/F10 не имеет значимых отличий от показателей у животных с диким типом генома. Известно, что uPAR конкурирует с uPA за участие во многих не протеолитических биологических процессах, таких как миграция, адгезия, пролиферация клеток и ангиогенез [22]. То есть, у мышей uPA-/- функции uPA могли выполняться uPAR. В нашем исследовании у самок uPA-/- уровень урокиназного рецептора в исследованных образцах не изменялся по отношению к показателям у интактных животных, тогда как у самцов в образцах опухоли возрастал, что сопровождалось большими объемами меланомы у самцов по сравнению с самками.

Ряд исследований подтверждает, что снижение экспрессии uPAR на клеточной поверхности смягчает развитие характерных признаков рака, вызванных мутациями PIK3CA и KRas при колоректальном раке [23], а взаимодействуя с uPA и IGF1R, uPAR способен усиливать злокачественный потенциал тройного негативного рака молочной железы [24]. Клинические наблюдения подтверждаются экспериментальными исследованиями, в которых нокаут гена uPAR у мышей приводит к остановке G2/M, тем самым подавляя пролиферацию клеток [25]. Имеются исследования о возможности применения ингибиторов uPA для замедления роста опухоли и метастазирования [26].

Считают, что сверхэкспрессия uPAR в клетках меланомы человека контролирует инвазивный и гликолитический фенотип. Уже установленные пути, опосредованные uPAR, включают интегрин-зависимую ассоциацию uPAR как минимум с четырьмя системами *IL-TKR: EGFR, IGFR, PDGFR* и *MET* [27]. Результаты наших исследований показали существенное увеличение уровня uPAR в образцах опухоли и ее перифокальной зоны у мышей uPA+/+, тогда как у самок uPA-/- такая закономерность не прослеживалась, и только у самцов uPA-/- в образцах опухоли возрастала концентрация рецептора урокиназы. Сложность различных молекулярных путей позволяет злокачественным клеткам продолжать пролиферировать и мигрировать даже в условиях дефицита

урокиназы, используя uPA-независимые пути протеолитической активации факторов ангиогенеза. Это было подтверждено проведенными нами ранее исследованиями факторов ангиогенеза у животных с нокаутом по гену урокиназы, демонстрирующими повышенное содержание в непораженной коже VEGF-A и особенно VEGF-C у самок мышей uPA^{-/-} [28].

В то же время стоит понимать, что нокаут по гену урокиназы является своеобразным искусственно вызванным генетическим коморбидным заболеванием, в результате которого происходит угнетение фибринолитической системы не только в кожных покровах, но и в других органах и системах. Участие фибринолитической системы в различных физиологических процессах, заживлении ран, а также в сохранении нейронов мозга после различных ишемических повреждений свидетельствует о возможной недостаточности этих процессов у животных uPA^{-/-}.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Тот факт, что у мышей uPA^{-/-}, несмотря на крайне малые объемы первичной опухоли и редкое метастазирование, опухолевая болезнь вызывала гибель животных на тех же сроках, что и у животных uPA^{+/+}, свидетельствует о существенном влиянии опухолевой болезни на все регуляторные системы организма вне зависимости от размера неоплазмы. Наше исследование подтвердило положение о том, что применение препаратов, ингибирующих пути урокиназы, может быть перспективно в лечении заболевания за счет замедления роста объема неоплазмы и ее метастазирования, но не является панацеей, так как действие злокачественной опухоли на организм гораздо более сложное, поэтому требуются дальнейшие исследования патогенеза злокачественного роста.

Список источников

1. Ismail AA, Shaker BT, Bajou K. The Plasminogen-Activator Plasmin System in Physiological and Pathophysiological Angiogenesis. *Int J Mol Sci.* 2021 Dec 29;23(1):337. <https://doi.org/10.3390/ijms23010337>
2. Brungs D, Chen J, Aghmesheh M, Vine KL, Becker TM, Carolan MG, et al. The urokinase plasminogen activation system in gastroesophageal cancer: A systematic review and meta-analysis. *Oncotarget.* 2017 Apr 4;8(14):23099–23109. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.15485>
3. Wyganowska-Świątkowska M, Tarnowski M, Murtagh D, Skrzypczak-Jankun E, Jankun J. Proteolysis is the most fundamental property of malignancy and its inhibition may be used therapeutically (Review). *Int J Mol Med.* 2019 Jan;43(1):15–25. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2018.3983>
4. Shantha Kumara H, Poppy A, Gamage DN, Mitra N, Yan X, Hedjar Y, et al. Compared to preoperative plasma levels post-operative urokinase-type plasminogen activator-1 levels are persistently elevated for 6 weeks after minimally invasive colorectal resection. *J Gastrointest Oncol.* 2023 Feb 28;14(1):187–197. <https://doi.org/10.21037/jgo-22-113>
5. Ogino R, Yokooji T, Hayashida M, Suda S, Yamakawa S, Hayashida K. Emerging Anti-Inflammatory Pharmacotherapy and Cell-Based Therapy for Lymphedema. *Int J Mol Sci.* 2022 Jul 9;23(14):7614. <https://doi.org/10.3390/ijms23147614>
6. Elmoselhi AB. Advantages of Understanding the Molecular Mechanisms of Angiogenesis in Various Physiological and Pathological Conditions. *Int J Mol Sci.* 2023 Mar 12;24(6):5412. <https://doi.org/10.3390/ijms24065412>
7. Кит О. И., Франциянц Е. М., Котиева М. М., Каплиева И. В., Трепитакки Л. К., Бандовкина В. А. и др. Динамика тканевой системы регуляторов плазминогена при меланоме кожи на фоне хронической боли у самок мышей. *Трансляционная медицина.* 2018;5(2):38–46. <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2018-5-2-38-46>, EDN: XRHEOL
8. Кит О. И., Франциянц Е. М., Козлова Л. С., Каплиева И. В., Бандовкина В. А., Погорелова Ю. А. и др. Урокиназа и ее рецептор в меланоме кожи, воспроизведенной на фоне хронической нейрогенной боли, у мышей обоего пола в сравнительном аспекте. *Вопросы онкологии.* 2020;66(4):445–450. <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2020-66-4-445-450>, EDN: HMDEUV
9. Франциянц Е. М., Бандовкина В. А., Погорелова Ю. А., Ткаля Л. Д., Черярина Н. Д. Активность компонентов системы активации плазминогена и некоторых факторов неоангиогенеза в динамике развития перевиваемой меланомы B16/F10. *Современные проблемы науки и образования.* 2015;(5):617. EDN: YTIGLR
10. Кит О. И., Франциянц Е. М., Козлова Л. С., Каплиева И. В., Бандовкина В. А., Погорелова Ю. А. и др. Урокиназа и ее рецептор в меланоме кожи, воспроизведенной на фоне хронической нейрогенной боли, у мышей обоего пола в сравнительном аспекте *Вопросы онкологии.* 2020; 66(4):445–450. <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2020-66-4-445-450>

11. Frese KK, Tuveson DA. Maximizing mouse cancer models. *Nat Rev Cancer*. 2007 Sep;7(9):645–658. <https://doi.org/10.1038/nrc2192>
12. Lamprecht Tratar U, Horvat S, Cemazar M. Transgenic Mouse Models in Cancer Research. *Front Oncol*. 2018;8:268. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00268>
13. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Научный центр экспертизы средств медицинского применения Минздрава России. Том Часть 1. Москва: Гриф и К, 2012, 944 с. EDN SDEWMP
14. Dingemans KP, van Spronsen R, Thunnissen E. B16 melanoma metastases in mouse liver and lung. I. Localization. *Invasion Metastasis*. 1985;5(1):50–60.
15. Франциянц Е. М., Каплиева И. В., Сурикова Е. И., Нескубина И. В., Бандовкина В. А., Трепитаки Л. К. и др. Влияние нокаута по гену урокиназы на рост меланомы в эксперименте. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2019;39(4):62–70. <https://doi.org/10.15372/SSMJ20190408>, EDN: PLXEYI
16. Leth JM, Ploug M. Targeting the Urokinase-Type Plasminogen Activator Receptor (uPAR) in Human Diseases With a View to Non-invasive Imaging and Therapeutic Intervention. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:732015. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.732015>
17. Mahmood N, Mihalcioiu C, Rabbani SA. Multifaceted Role of the Urokinase-Type Plasminogen Activator (uPA) and Its Receptor (uPAR): Diagnostic, Prognostic, and Therapeutic Applications. *Front Oncol*. 2018;8:24. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00024>
18. Ding Y, Niu W, Zheng X, Zhou C, Wang G, Feng Y, et al. Plasminogen activator, urokinase enhances the migration, invasion, and proliferation of colorectal cancer cells by activating the Src/ERK pathway. *J Gastrointest Oncol*. 2022 Dec;13(6):3100–3111. <https://doi.org/10.21037/jgo-22-1215>
19. Zhai BT, Tian H, Sun J, Zou JB, Zhang XF, Cheng JX, et al. Urokinase-type plasminogen activator receptor (uPAR) as a therapeutic target in cancer. *J Transl Med*. 2022 Mar 18;20(1):135. <https://doi.org/10.1186/s12967-022-03329-3>
20. Lv T, Zhao Y, Jiang X, Yuan H, Wang H, Cui X, et al. uPAR: An Essential Factor for Tumor Development. *J Cancer*. 2021;12(23):7026–7040. <https://doi.org/10.7150/jca.62281>
21. Ragone C, Minopoli M, Ingangi V, Botti G, Fratangelo F, Pessi A, et al. Targeting the cross-talk between Urokinase receptor and Formyl peptide receptor type 1 to prevent invasion and trans-endothelial migration of melanoma cells. *J Exp Clin Cancer Res*. 2017 Dec 8;36(1):180. <https://doi.org/10.1186/s13046-017-0650-x>
22. Chen JS, Chang LC, Wu CZ, Tseng TL, Lin JA, Lin YF, et al. Significance of the urokinase-type plasminogen activator and its receptor in the progression of focal segmental glomerulosclerosis in clinical and mouse models. *J Biomed Sci*. 2016 Feb 4;23:24. <https://doi.org/10.1186/s12929-016-0242-7>
23. Ahn SB, Mohamedali A, Pascovici D, Adhikari S, Sharma S, Nice EC, et al. Proteomics Reveals Cell-Surface Urokinase Plasminogen Activator Receptor Expression Impacts Most Hallmarks of Cancer. *Proteomics*. 2019 Nov;19(21–22):e1900026. <https://doi.org/10.1002/pmic.201900026>
24. Huber MC, Mall R, Braselmann H, Feuchtinger A, Molatore S, Lindner K, et al. uPAR enhances malignant potential of triple-negative breast cancer by directly interacting with uPA and IGF1R. *BMC Cancer*. 2016 Aug 8;16:615. <https://doi.org/10.1186/s12885-016-2663-9>
25. Gogineni VR, Nalla AK, Gupta R, Dinh DH, Klopfenstein JD, Rao JS. Chk2-mediated G2/M cell cycle arrest maintains radiation resistance in malignant meningioma cells. *Cancer Lett*. 2011 Dec 26;313(1):64–75. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2011.08.022>
26. Hosen SMZ, Uddin MN, Xu Z, Buckley BJ, Perera C, Pang TCY, et al. Metastatic phenotype and immunosuppressive tumour microenvironment in pancreatic ductal adenocarcinoma: Key role of the urokinase plasminogen activator (PLAU). *Front Immunol*. 2022;13:1060957. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1060957>
27. Laurenzana A, Chillà A, Luciani C, Peppicelli S, Biagioni A, Bianchini F, et al. uPA/uPAR system activation drives a glycolytic phenotype in melanoma cells. *Int J Cancer*. 2017 Sep 15;141(6):1190–1200. <https://doi.org/10.1002/ijc.30817>
28. Кит О. И., Франциянц Е. М., Каплиева И. В., Сурикова Е. И., Нескубина И. В., Бандовкина В. А. и др. Динамика факторов ангиогенеза у мышей линии C57BL/6-PLAUTMI. IBUG-THIS PLAU6FDHU/GFDHU при меланоме, развивающейся на фоне хронической нейрогенной боли. *Вопросы онкологии*. 2020;66(4):439–444. <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2020-66-4-439-444>, EDN: RIXXPH

Информация об авторах:

Франциянц Елена Михайловна – д.б.н., профессор, заместитель генерального директора по научной работе, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 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

Бандовкина Валерия Ахтямовна ✉ – д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2302-8271>, SPIN: 8806-2641, AuthorID: 696989, ResearcherID: AAG-8708-2019, Scopus Author ID: 57194276288

Сурикова Екатерина Игоревна – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4318-7587>, SPIN: 2401-4115, AuthorID: 301537, ResearcherID: AAG-8748-2019, Scopus Author ID: 6507092816

Каплиева Ирина Викторовна – д.м.н., руководитель лабораторией изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3972-2452>, SPIN: 5047-1541, AuthorID: 734116, ResearcherID: AAE-3540-2019, Scopus Author ID: 23994000800

Погорелова Юлия Александровна – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2674-9832>, SPIN: 2168-8737, AuthorID: 558241, ResearcherID: AAE-4168-2022, Scopus Author ID: 37026863400

Нескубина Ирина Валерьевна – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>, SPIN: 3581-8531, AuthorID: 794688, ResearcherID: AAG-8731-2019, Scopus Author ID: 6507509066

Трепитаки Лидия Константиновна – к.б.н., научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9749-2747>, SPIN: 2052-1248, AuthorID: 734359, ResearcherID: AAG-9218-2019, Scopus Author ID: 55357624700

Черярина Наталья Дмитриевна – врач-лаборант лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3711-8155>, SPIN: 2189-3404, AuthorID: 558243, Scopus Author ID: 56204439400

Ушакова Наталья Дмитриевна – д.м.н., профессор, врач анестезиолог-реаниматолог отделения анестезиологии и реанимации, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0068-0881>, SPIN: 9715-2250, AuthorID: 571594, Scopus Author ID: 8210961900

Ишонина Оксана Георгиевна – к.б.н., заведующий отделом подготовки и переподготовки специалистов, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация; доцент кафедры медицинской биологии и генетики ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5300-1213>, SPIN: 4051-5165, AuthorID: 612417, Scopus Author ID: 37115461900

Гусарева Марина Александровна – к.м.н., заведующий отдела радиотерапии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9426-9662>, SPIN: 9040-5476, AuthorID: 705242

Удаленкова Ирина Александровна – к.м.н., врач-онколог отделения противоопухолевой лекарственной терапии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0075-6935>, SPIN: 2175-4570, AuthorID: 974753

Вклад авторов:

Франциянц Е. М., Бандовкина В. А., Каплиева И. В. – разработка концепции и дизайна эксперимента, написание исходного текста, анализ и интерпретация данных, окончательное утверждение рукописи для публикации;

Сурикова Е. И., Черярина Н. Д. – статистическая обработка результатов, техническое редактирование и подготовка рукописи к публикации; Погорелова Ю. А., Нескубина И. В., Трепитаки Л. К. – проведение эксперимента, выполнение ИФА-анализа;

Ушакова Н. Д., Ишонина О. Г. – научное редактирование, доработка текста, подбор литературы, оформление библиографии;

Гусарева М. А., Удаленкова И. А. – научное редактирование, доработка текста.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Особенности аноректальной функции после лучевой терапии у больных раком прямой кишки

О. И. Кит, О. К. Бондаренко[✉], Ю. А. Геворкян, Н. В. Солдаткина, М. А. Гусарева, Н. Г. Кошелева, А. А. Солнцева, Д. С. Петров, Д. А. Савченко

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

✉ bondarenkoo.olga@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучение функции сфинктерного аппарата у больных раком прямой кишки после химиолучевой терапии с помощью метода аноректальной манометрии высокого разрешения.

Пациенты и методы. В исследовании принимали участие 30 больных раком среднеампулярного и нижнеампулярного отделов прямой кишки, проходивших комбинированное лечение в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Пациентам выполнялся курс неоадьювантной дистанционной гамма-терапии с применением капецитабина. Для изучения функциональных параметров сфинктерного аппарата выполняли аноректальную манометрию высокого разрешения до начала лечения и через 2 мес. после завершения химиолучевой терапии. Степень выраженности аноректальной дисфункции оценивали с использованием шкалы анальной инконтиненции Wexner.

Результаты. После проведения неоадьювантной химиолучевой терапии по данным аноректальной манометрии высокого разрешения показатель среднего давления анального канала в состоянии покоя снижался в 1,4 раза ($p < 0,05$), а среднее абсолютное давление сжатия при волевом сокращении уменьшалось в 1,2 раза ($p = 0,0012$). Сравнительная оценка максимального абсолютного давления сжатия на данном этапе лечения не позволила проследить достоверного отличия между его значением до начала лучевой терапии и через 2 мес. после ее завершения ($p > 0,05$). У 23 пациентов было отмечено увеличение пороговых объемов чувствительности ($p = 0,16$). Применение шкалы Wexner не показало статистически значимого изменения медианы баллов по результатам опросов пациентов после завершения лечения (5,2 против 5,5 баллов, $p > 0,05$).

Заключение. Лучевая терапия оказывает влияние на аноректальную функцию, что может способствовать возникновению синдрома низкой передней резекции после хирургического лечения. По этой причине в настоящее время необходимо учитывать риски развития аноректальной дисфункции. Не менее важным является использование методов профилактики синдрома низкой передней резекции для больных, получивших комбинированное лечение по поводу рака прямой кишки.

Ключевые слова: синдром низкой передней резекции, аноректальная манометрия высокого разрешения, неоадьювантная химиолучевая терапия

Для цитирования: Кит О. И., Бондаренко О. К., Геворкян Ю. А., Солдаткина Н. В., Гусарева М. А., Кошелева Н. Г., Солнцева А. А., Петров Д. С., Савченко Д. А. Особенности аноректальной функции после лучевой терапии у больных раком прямой кишки. Южно-Российский онкологический журнал. 2024; 5(2):25-34. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-2-3>, <https://elibrary.ru/cmrrin>

Для корреспонденции: Бондаренко Ольга Константиновна – аспирант, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63
E-mail: bondarenko.olga@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9543-4551>
SPIN: 7411-8638, AuthorID: 1223821

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 «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (выписка из протокола заседания № 28 от 09.09.2022 г.). Информированное согласие получено от всех участников исследования

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось

Конфликт интересов: Кит О. И., Солдаткина Н. В. являются членами редакционной коллегии журнала «Южно-Российский онкологический журнал» с 2019 г., но не имеют никакого отношения к решению опубликовать эту статью. Статья прошла принятую в журнале процедуру рецензирования. Об иных конфликтах интересов авторы не заявляли

Статья поступила в редакцию 03.11.2023; одобрена после рецензирования 26.03.2024; принята к публикации 09.05.2024

© Кит О. И., Бондаренко О. К., Геворкян Ю. А., Солдаткина Н. В., Гусарева М. А., Кошелева Н. Г., Солнцева А. А., Петров Д. С., Савченко Д. А., 2024

Features of anorectal function after radiation therapy in patients with rectal cancer

O. I. Kit, O. K. Bondarenko✉, Yu. A. Gevorkyan, N. V. Soldatkina, M. A. Gusareva, N. G. Kosheleva, A. A. Solntseva, D. S. Petrov, D. A. Savchenko

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

✉ bondarenkoo.olga@yandex.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. To study the function of the sphincter in patients with rectal cancer after chemoradiotherapy using the method of high-resolution anorectal manometry.

Patients and methods. The study included 30 patients with cancer of the middle and lower ampullary rectum, who underwent combined treatment at the National Medical Research Center of Oncology. The patients underwent a course of neoadjuvant gamma radiation therapy using capecitabine. High-resolution anorectal manometry was performed before the start of treatment and 2 months after completion of chemoradiotherapy to study the functional parameters of the sphincter apparatus. The severity of anorectal dysfunction was assessed using the Wexner anal incontinence scale.

Results. According to high-resolution anorectal manometry, the average pressure of the anal canal at rest decreased by 1.4 times ($p < 0.05$), and the average absolute compression pressure with voluntary contraction decreased by 1.2 times ($p = 0.0012$) after neoadjuvant chemoradiotherapy. A comparative assessment of the maximum absolute compression pressure at this stage of treatment did not allow us to trace a significant difference between its value before the start of radiation therapy and 2 months after its completion ($p > 0.05$). An increase in threshold sensitivity volumes was noted in 23 patients ($p = 0.16$). The use of the Wexner scale didn't show a statistically significant change in the median scores according to the results of patient surveys following the completion of treatment (5.2 vs. 5.5 points, $p > 0.05$).

Conclusions. Radiation therapy has an effect on anorectal function, which may contribute to the occurrence of low anterior resection syndrome after surgical treatment. For this reason, it is now necessary to carefully consider the risks of developing anorectal dysfunction. Equally important is the use of methods for the prevention of low anterior resection syndrome for patients who have received combined treatment for rectal cancer.

Keywords: low anterior resection syndrome, high-resolution anorectal manometry, neoadjuvant chemoradiotherapy

For citation: Kit O. I., Bondarenko O. K., Gevorkyan Yu. A., Soldatkina N. V., Gusareva M. A., Kosheleva N. G., Solntseva A. A., Petrov D. S., Savchenko D. A. Features of anorectal function after radiation therapy in patients with rectal cancer. South Russian Journal of Cancer. 2024; 5(2): 25-34. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-2-3>, <https://elibrary.ru/cmrrin>

For correspondence: Olga K. Bondarenko – 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: bondarenko.olga@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9543-4551>

SPIN: 7411-8638, AuthorID: 1223821

Compliance with ethical standards: the work followed the ethical principles set forth in the World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ed. 2013. The study is approved by the Committee on Biomedical Ethics at the National Medical Research Center for Oncology (extract from the protocol of the meeting No. 28 dated 09/09/2022). Informed consent was received from all participants of the study

Funding: this work was not funded

Conflict of interest: Kit O. I., Soldatkina N. V. has been the member of the editorial board of the South Russian Journal of Cancer since 2019, however he has no relation to the decision made upon publishing this article. The article has passed the review procedure accepted in the journal. The authors did not declare any other conflicts of interest

The article was submitted 03.11.2023; approved after reviewing 26.03.2024; accepted for publication 09.05.2024

ВВЕДЕНИЕ

В 2020 г. во всем мире было выявлено 1 931 590 новых случаев колоректального рака и 935 173 смертей, в России эти показатели заболеваемости и смертности составляли 77 213 и 42 079 случаев соответственно [1]. Данные статистики свидетельствуют о том, что проблема диагностики и лечения рака прямой кишки продолжает оставаться актуальной.

Стандартом лечения пациентов с местнораспространенным раком среднеампулярного и нижнеампулярного отделов прямой кишки является проведение неoadъювантной химиолучевой терапии с последующим хирургическим лечением с выполнением тотальной мезоректумэктомии. Важным аспектом в лечении рака прямой кишки остается органосохраняющая стратегия с применением нервосберегающих методик [2]. Сохранение целостности и функциональной активности сфинктерного аппарата позволяет избежать необходимости формирования пожизненной колостомы и улучшает качество жизни пациентов [3].

Применение лучевой терапии на первом этапе комбинированного лечения позволяет снизить риск местного рецидива за счет уменьшения размера опухолевого процесса и улучшить долгосрочную выживаемость пациентов [4, 5]. Современная модифицированная лучевая терапия способствует не только уменьшению размера первичной опухоли, но и снижает площадь облучения окружающих тканей [6]. Тем не менее, проведение неoadъювантной химиолучевой терапии может отрицательно сказаться на работе сфинктерного аппарата прямой кишки [7]. В связи с увеличением числа сфинктеросохраняющих оперативных вмешательств и проведением неадъювантной лучевой терапии в последние годы все больше внимания уделяется функциональным результатам [8, 9]. Систематические обзоры рассматривают лучевую терапию как один из значимых факторов риска дисфункции кишечника [10].

По данным ряда авторов, действие лучевой терапии связано с развитием фиброзных изменений в структурах и тканях, подвергающихся облучению [6, 11]. Способствуя уменьшению эластичности прямой кишки за счет утолщения ее стенки, лучевая терапия приводит к ухудшению долгосрочных функциональных результатов [12]. При близком расположении первичной опухоли по отношению

к анальному каналу сфинктерный аппарат часто также находится в поле высоких доз облучения, что может оказывать влияние на тонус сфинктеров, снижая сократительную способность запирающего аппарата [10].

Изменения функционирования сфинктерного аппарата могут включать увеличение частоты позывов и ухудшение контроля отхождения газов и дефекации с возможным развитием инконтиненции [13]. Подобные клинические проявления могут возникать с различной частотой у больных раком прямой кишки после низкой передней резекции [14]. Поэтому актуальным является изучение аноректальной функции на разных этапах лечения с целью разработки индивидуальных методов профилактики развития и коррекции данной симптоматики.

Система оценки симптомов аноректальной дисфункции включает в себя различные опросники, наиболее широко используемыми из которых являются шкалы LARS и Wexner. В анализе рандомизированного клинического исследования FOWARC неoadъювантная лучевая терапия была связана с худшим показателем LARS и качеством жизни [15]. Однако вопрос о влиянии неoadъювантной терапии на функциональные результаты у пациентов после комбинированного лечения рака прямой кишки в настоящее время остается дискуссионным.

Объективная оценка функции сфинктерного аппарата прямой кишки может быть получена при выполнении аноректальной манометрии высокого разрешения. Данный метод исследования представляет распределение давления в анальном канале как в состоянии покоя, так и при выполнении физиологических проб. Преимущество аноректальной манометрии высокого разрешения заключается в использовании более высокого физиологического разрешения, создаваемого увеличенной плотностью чувствительных датчиков и их расположением по окружности [16]. Аноректальная манометрия высокого разрешения отображает изменения аноректальной активности в покое и при различных функциональных пробах в виде цветного контурного графика [17].

Цель исследования: изучение показателей функционального состояния сфинктерного аппарата у больных раком прямой кишки после химиолучевой терапии с помощью метода аноректальной манометрии высокого разрешения.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Был выполнен анализ изменения аноректальной функции сфинктерного аппарата у пациентов, прошедших наблюдение и лечение в период с 2022 по 2023 гг. в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. В исследование вошли 30 больных с подтвержденным диагнозом рака средне- и нижнеампулярного отделов прямой кишки. На момент лечения средний возраст больных составлял 63,2 года (от 40 до 76 лет). При этом мужчин было 60 % (18 пациентов), женщин – 40 % (12 пациенток). По результатам гистологического анализа у пациентов наблюдалась аденокарцинома с преобладанием умереннодифференцированной формы опухоли (56,7 %). У 16 пациентов (53,3 %) первичный опухолевый очаг располагался на расстоянии ≤ 5 см от аноректального перехода. Медиана расстояния от нижнего края опухоли до анодермального перехода составила 6,5 см (3–10 см).

Пациентам проводилась конформная дистанционная лучевая терапия с разовой очаговой дозой 2 Гр 5 раз в неделю до суммарной очаговой дозы 50–54 Гр на первичный опухолевый очаг и 44 Гр на пути регионарного метастазирования. Лучевая терапия сопровождалась модификацией капецитабином дозировкой 1650 мг/м² в сутки внутрь в два приема в дни проведения сеансов.

Для изучения функциональных параметров сфинктерного аппарата прямой кишки выполняли аноректальную манометрию высокого разрешения с помощью водно-перфузионной техники с использованием 8-канального катетера прибора WMP Solar GI (MMS, Голландия). Исследование проводилось до начала лечения и через 2 мес. после окончания химиолучевой терапии. Выполнение аноректальной манометрии осуществлялось по стандартной методике в положении пациента с согнутыми коленными и тазобедренными суставами. Оценивали уровень среднего анального давления в анальном канале в состоянии покоя и уровней среднего и максимального давления сжатия. Для исследования чувствительности и резервуарной функции прямой кишки регистрировали первое ректальное ощущение, объем при первом позыве к дефекации и максимально переносимый объем при наполнении баллона воздухом.

Степень выраженности дисфункции сфинктерного аппарата прямой кишки по клинической градации оценивали с использованием шкалы анальной инконтиненции Wexner. Результаты шкалы представляются в виде баллов от 0 до 20, при этом недержание кишечного содержимого устанавливается при наборе 12 баллов и более.

В соответствии с критерием Шапиро-Уилка рассмотренные параметры в исследовании имели распределение, отличное от нормального. Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета Statistica 13.0. Количественные данные в нашем исследовании были представлены медианой (Me) и значениями квартилей Q1 и Q3 в формате Me (Q1–Q3). Для сравнения переменных двух выборок (до и после проведения химиолучевой терапии) использовали непараметрический критерий Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

С момента начала заболевания раком прямой кишки у пациентов клинические проявления опухолевого поражения варьировали от эпизодов кишечного дискомфорта и нерегулярного стула до непроизвольной дефекации. Из общей группы исследования в 16 случаях (53,3 %) – жидкий стул чаще 5 раз в день, у 12 больных (40 %) отмечались ложные позывы к дефекации, у 7 больных (23,3 %) встречались проявления анальной инконтиненции в виде случаев неконтролируемого отхождения газов и у 4 из них (13,3 %) – недержание кишечного содержимого.

Функциональные изменения внутреннего анального сфинктера отражают параметры анального давления покоя. При сравнении полученных показателей уровень среднего анального давления в покое у пациентов снижался в 1,4 раза после завершения курса химиолучевой терапии ($p < 0,05$) (Рис. 1).

Подобная тенденция отмечалась и при оценке среднего абсолютного давления сжатия при волевом сокращении. Через 2 мес. после завершения лучевой терапии его показатель у пациентов уменьшался в 1,2 раза ($p = 0,0012$). Сравнительная оценка максимального абсолютного давления сжатия на данном этапе лечения не позволила проследить достоверного отличия между его значением до начала лучевой терапии и через 2 мес. после ее завершения ($p > 0,05$). Значения полученных параметров аноректальной манометрии высокого разрешения представлены в табл. 1.

Обращало на себя внимание снижение выносливости волевого сокращения и повышение мышечной утомляемости при функциональных пробах. По завершении химиолучевой терапии наблюдалось снижение медианы продолжительности сокращения сфинктера в среднем с 22 сек. от исходного состояния до 18 сек. Также у 23 пациентов было отмечено увеличение пороговых объемов чувствительности, однако статистической разницы при сравнении данных показателей выявлено не было ($p = 0,16$).

Изучение аноректальной функции по шкале Wexner не показало статистически значимого изменения медианы баллов по результатам опросов пациентов после завершения неоадьювантного этапа лечения (5,2 балла и 5,5 баллов до начала лечения и после лучевой терапии соответственно, $p > 0,05$). До начала лечения минимальная оценка в 2 балла по шкале Wexner наблюдалась у 11 пациентов (36,7%), при этом у 7 из них (23,3%) после лучевой терапии минимальный порог увеличился до 4 баллов. Наряду с этим число больных с максимальной оценкой в 13 баллов по шкале Wexner после проведения лучевой терапии не изменилось (13,3%).

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведение химиолучевой терапии на первом этапе лечения у больных раком средне- и нижнеампулярного отделов прямой кишки увеличивает возможность выполнения органосохраняющего лечения и улучшает онкологические результаты лечения путем снижения частоты местных рецидивов опухоли менее 6% [13]. Однако вместе с данным преимуществом применение лучевой терапии с последующей передней резекцией прямой кишки и тотальной мезоректумэктомией связано с более высокими показателями дисфункции кишечника [18]. Развитие аноректальной дисфункции разной степени выраженности после комбинированного

лечения рака прямой кишки было связано с ухудшением качества жизни у 19–52% пациентов [19].

В современной литературе имеется множество работ, описывающих более значимое влияние комбинированного лечения на сфинктерный аппарат прямой кишки по сравнению с оперативным вмешательством [13, 20]. Операционная травма может вызвать нейрогенное повреждение запирающего аппарата за счет мобилизации особенно при низких резекциях прямой кишки [21]. Интраоперационная травматизация в виде анальной дилатации может затрагивать как наружный, так и внутренний анальные сфинктеры с транзитной зоной и так называемой «геморроидальной подушкой» [22]. Однако исследований, предоставляющих данные о непосредственном воздействии неоадьювантной

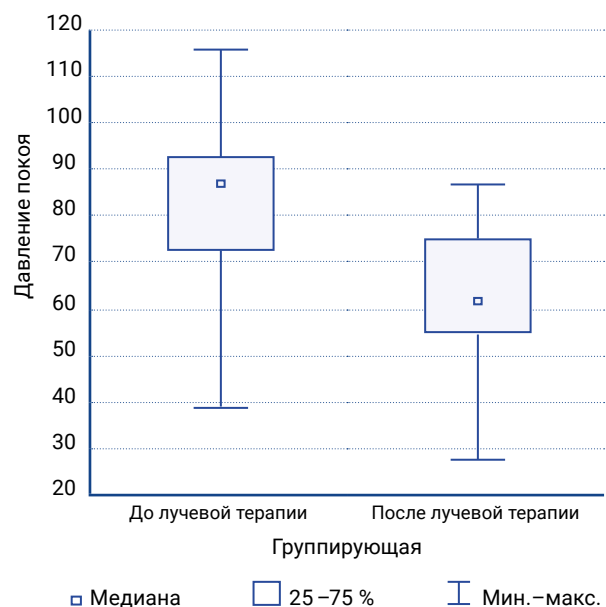


Рис. 1. Сравнительная оценка показателя давления покоя в анальном канале

Табл. 1. Параметры аноректальной манометрии исследуемых при лучевой терапии

Параметр	До начала лечения Me (Q1; Q3)	После лучевой терапии Me (Q1; Q3)	p
Среднее анальное давление в состоянии покоя (мм рт.ст)	87 (73; 92)	61 (55; 74)	$p < 0,05$
Среднее абсолютное давление сжатия (мм рт.ст)	154 (128; 173)	124 (102; 139)	$p = 0,0012$
Максимальное анальное давление сжатия (мм рт.ст)	196 (161; 221)	176 (149; 139)	$p > 0,05$
Время теста на выносливость (сек.)	22 (17; 25)	18 (11; 23)	$p > 0,05$
Пороговый объем чувствительности (мл)	35 (28; 49)	46 (41; 54)	$p = 0,16$

лучевой терапии на сфинктерный аппарат, встречается гораздо меньше [9, 10]. В данном исследовании проводилась оценка влияния лучевой терапии на функцию сфинктерного аппарата прямой кишки в соответствии с манометрическими показателями и клиническими проявлениями.

Аноректальная функция представляет собой сложный физиологический механизм, важная роль в реализации которого принадлежит сфинктерному аппарату прямой кишки. Активность гладкой мускулатуры внутреннего анального сфинктера поддерживает давление в анальном канале в состоянии покоя. В то время как поперечнополосатая мускулатура наружного анального сфинктера и тазового дна участвует в осуществлении произвольного сокращения, особенно в течение длительного периода [23]. Скоординированное функционирование анальных сфинктеров и ампулы прямой кишки обеспечивает возможность адекватного осуществления запирающей функции [24].

Результаты проведенного анализа демонстрируют снижение показателей давления в покое после проведения неоадьювантного курса лучевой терапии, что подтверждают сведения и других исследований, встречающихся в современной литературе [25, 26]. В то же время вышеуказанные данные не выявили значимого изменения в работе наружного анального сфинктера по сравнению с работой внутреннего сфинктера. Также несколько публикаций не показали изменений в работе наружного анального сфинктера после лучевой терапии [26–28]. Однако в нашем исследовании наблюдалось снижение средних значений анального давления сжатия, что можно рассматривать как возможную предпосылку к снижению силы и выносливости произвольного сокращения.

Рандомизированные исследования демонстрируют снижение уровня давления покоя в послеоперационном периоде после неоадьювантной лучевой терапии за счет ухудшения работы внутреннего сфинктера [29, 30]. Облучение связывают с повреждением крестцового сплетения и с фиброзными изменениями мышечных волокон сфинктеров [31]. Большая восприимчивость к лучевому воздействию внутреннего сфинктера по сравнению с наружным может быть обусловлена такими особенностями, как меньшее количество мышечных волокон и иннервация тонкой сетью нервных волокон тазового сплетения [28].

Изменения запирающего аппарата прямой кишки были отмечены также при выполнении

морфологического исследования. Посредством гистологического анализа было выявлено повреждение миэнтерического сплетения внутреннего анального сфинктера, а также наблюдалась тенденция к повышенному отложению коллагена в данной структуре [32].

Патогенетические моменты воздействия лучевой терапии на запирающую функцию изучаются во многих исследованиях. В работе Rahbari N. N. и соавт. (2013) было установлено, что лучевая терапия может не только вызывать сложности при выполнении тотальной мезоректумэктомии, но и снижать способность облученных тканей к репарации, тем самым приводя к увеличению ряда осложнений у больных после низкой передней резекции прямой кишки [33]. В литературе также была описана связь между проведением лучевой терапии и развитием несостоятельности колоректального рака (Кит О. И. и соавт., 2018) [34].

С другой стороны, патогенетическим фактором негативного воздействия лучевой терапии на функцию анальных сфинктеров является фиброз сосудов, тазового и мышечно-кишечного сплетения [11, 32, 35]. Некоторые исследователи описывают нарушение работы функции внутреннего анального сфинктера, даже не включенного в поле облучения, что также может оказывать влияние на вместимость и податливость прямой кишки [36]. Вышеуказанные факты способствуют развитию аноректальной дисфункции и возникновению анальной инконтиненции у части пролеченных больных.

Облучение прямой кишки вызывает ослабление анального сфинктера, а также нарушение обработки аноректальных сенсорных стимулов [36]. По данным исследования, проведенного van der Sande M. E. и соавт. (2019), была отслежена взаимосвязь между дозой проводимой лучевой терапии и степенью выраженности аноректальной дисфункции у больных раком прямой кишки [37].

Клинические проявления негативного воздействия лучевой терапии на функцию запирающего аппарата прямой кишки могут характеризоваться специфической картиной. Большинство авторов сообщает о более высокой частоте жидкого стула и позывов к дефекации после лучевой терапии, реже встречаются признаки анальной инконтиненции в виде недержания газов и кишечного содержимого и загрязнения белья [13, 26, 28]. Однако в соответствии с полученными в нашем исследовании данными существенной разницы в клинической

картине до и после проведения лучевой терапии не наблюдалось. Наиболее частыми жалобами так же, как и до начала лечения, оставались учащенный жидкий стул и ложные позывы к дефекации. Лишь у небольшого числа пациентов сохранялись случаи неконтролируемого отхождения газов и недержания кишечного содержимого.

De Nardi и соавт. исследовали 39 больных раком прямой кишки до и после выполнения лучевой терапии. Результаты аноректальной манометрии показали значительное снижение только давления в покое после проведенного лечения. При оценке недержания по шкале Wexner до неoadъювантной терапии 5 пациентов уже имели степень легкого недержания со средним баллом 3, а после неoadъювантной терапии 11 сообщили о недержании со средним баллом 3,8 [38].

При оценке качества функции сфинктерного аппарата по шкале Wexner в нашей работе не было отмечено существенной разницы в медиане баллов по результатам опроса пациентов. Этот факт говорит о том, что лучевая терапия не всегда вызывает ухудшение клинической симптоматики со стороны эвакуаторной функции.

Таким образом, в нашем исследовании изменения манометрических показателей работы внутреннего и наружного анального сфинктеров, снижение выносливости сокращения запирающего аппарата прямой кишки не сопровождались значимыми проявлениями со стороны клинической картины. Однако выявленные нами изменения могут стать предпосылкой к развитию анальной инконтиненции после завершения лечения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведение лучевой терапии может оказывать воздействие на функцию запирающего аппарата прямой кишки, особенно внутреннего анального сфинктера. Эти изменения могут способствовать формированию синдрома низкой передней резекции прямой кишки после оперативного вмешательства. По этой причине в настоящее время необходимо учитывать риски развития аноректальной дисфункции. Не менее важным является использование методов профилактики синдрома низкой передней резекции для больных, получивших комбинированное лечение по поводу рака прямой кишки.

Список источников

1. International Agency for Research on Cancer, WHO. Global cancer observatory (accessed Jan 11, 2021). Доступно по: <https://gco.iarc.fr/>. Дата обращения: 31.10.2023.
2. Fokas E, Appelt A, Glynne-Jones R, Beets G, Perez R, Garcia-Aguilar J, et al. International consensus recommendations on key outcome measures for organ preservation after (chemo)radiotherapy in patients with rectal cancer. *Nat Rev Clin Oncol*. 2021 Dec;18(12):805–816. <https://doi.org/10.1038/s41571-021-00538-5>
3. Beets GL, Figueiredo NF, Beets-Tan RGH. Management of Rectal Cancer Without Radical Resection. *Annu Rev Med*. 2017 Jan 14;68:169–182. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-062915-021419>
4. Кит О. И., Геворкян Ю. А., Солдаткина Н. В., Гусарева М. А., Харагезов Д. А., Милакин А. Г. и др. Полный клинический ответ рака прямой кишки на химиолучевое лечение: тактика. *Вопросы онкологии*. 2017;63(6):838–842. <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2017-63-6-838-842>, EDN: ZXWFEF
5. Danielle D, Theiss L, Chu D. Epidemiology and Pathophysiology of Low Anterior Resection Syndrome. *Seminars in Colon and Rectal Surgery*. 2021 Oct 1;32:100844. <https://doi.org/10.1016/j.scrs.2021.100844>
6. Li X X, Li X, Fu R, Ng D, Yang T, Zhang Y, et al. Efficacy of Neoadjuvant Therapy in Improving Long-Term Survival of Patients with Resectable Rectal Cancer: A Meta-Analysis. *Anticancer Agents Med Chem*. 2022;22(6):1068–1079. <https://doi.org/10.2174/1871520621666210726134809>
7. Bohlok A, Mercier C, Bouazza F, Galdon MG, Moretti L, Donckier V, et al. The burden of low anterior resection syndrome on quality of life in patients with mid or low rectal cancer. *Support Care Cancer*. 2020 Mar;28(3):1199–1206. <https://doi.org/10.1007/s00520-019-04901-2>
8. Pape E, Pattyn P, Van Hecke A, Somers N, Van de Putte D, Ceelen W, et al. Impact of low anterior resection syndrome (LARS) on the quality of life and treatment options of LARS - A cross sectional study. *Eur J Oncol Nurs*. 2021 Feb;50:101878. <https://doi.org/10.1016/j.ejon.2020.101878>
9. He S, Zhang J, Wang R, Li L, Shi L, Ren D, et al. Impact of long-course neoadjuvant radiation on postoperative low anterior resection syndrome and stoma status in rectal cancer: long-term functional follow-up of a randomized clinical trial. *BJS Open*. 2022 Nov 2;6(6):zrac127. <https://doi.org/10.1093/bjsopen/zrac127>

10. Loos M, Quentmeier P, Schuster T, Nitsche U, Gertler R, Keerl A, et al. Effect of preoperative radio(chemo)therapy on long-term functional outcome in rectal cancer patients: a systematic review and meta-analysis. *Ann Surg Oncol*. 2013 Jun;20(6):1816–1828. <https://doi.org/10.1245/s10434-012-2827-z>
11. Ihnát P, Slívová I, Tulinsky L, Ihnát Rudinská L, Máca J, Penka I. Anorectal dysfunction after laparoscopic low anterior resection for rectal cancer with and without radiotherapy (manometry study). *J Surg Oncol*. 2018 Mar;117(4):710–716. <https://doi.org/10.1002/jso.24885>
12. Sandberg S, Asplund D, Bisgaard T, Bock D, González E, Karlsson L, et al. Low anterior resection syndrome in a Scandinavian population of patients with rectal cancer: a longitudinal follow-up within the QoLiRECT study. *Colorectal Dis*. 2020 Oct;22(10):1367–1378. <https://doi.org/10.1111/codi.150953>
13. Кит О. И., Геворкян Ю. А., Солдаткина Н. В., Колесников Е. Н., Аверкин М. А., Гусарева М. А. Аноректальная манометрия высокого разрешения в исследовании аноректальной функции после комбинированного лечения рака прямой кишки. *Вопросы онкологии*. 2020;66(4):385–390. <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2020-66-4-385-390>, EDN: ZFEFMX
14. Scott SM, Carrington EV. The London Classification: Improving Characterization and Classification of Anorectal Function with Anorectal Manometry. *Curr Gastroenterol Rep*. 2020 Sep 15;22(11):55. Published 2020 Sep 15. <https://doi.org/10.1007/s11894-020-00793-z>
15. Deng Y, Chi P, Lan P, Wang L, Chen W, Cui L, et al. Neoadjuvant Modified FOLFOX6 With or Without Radiation Versus Fluorouracil Plus Radiation for Locally Advanced Rectal Cancer: Final Results of the Chinese FOWARC Trial. *J Clin Oncol*. 2019 Dec 1;37(34):3223–3233. <https://doi.org/10.1200/JCO.18.02309>
16. Mariotto R, Herbella FAM, Andrade VLÂ, Schlottmann F, Patti MG. VALIDATION OF A NEW WATER-PERFUSED HIGH-RESOLUTION MANOMETRY SYSTEM. *Arq Bras Cir Dig*. 2021;33(4):e1557. <https://doi.org/10.1590/0102-672020200004e1557>
17. Ciriza de Los Ríos C, Mínguez M, Remes-Troche JM, Lacima G. High-resolution and high-definition anorectal manometry: rediscovering anorectal function. *Rev Esp Enferm Dig*. 2018 Dec;110(12):794–805. <https://doi.org/10.17235/reed.2018.5705/2018>
18. Rosa C, Di Tommaso M, Caravatta L, Vinciguerra A, Augurio A, Perrotti F, et al. Assessment of bowel and anal sphincter function after neoadjuvant chemoradiotherapy in locally advanced rectal cancer. *Tumori*. 2018;104(2):121–127. <https://doi.org/10.1177/0300891618765580>
19. Seo M, Joo S, Jung KW, Song EM, Rao SSC, Myung SJ. New Metrics in High-Resolution and High-Definition Anorectal Manometry. *Curr Gastroenterol Rep*. 2018 Nov 5;20(12):57. <https://doi.org/10.1007/s11894-018-0662-5>
20. Miacci FLC, Guetter CR, Moreira PH, Sartor MC, Savio MC, Baldin Júnior A, et al. Predictive factors of low anterior resection syndrome following anterior resection of the rectum. *Rev Col Bras Cir*. 2020;46(6):e20192361. <https://doi.org/10.1590/0100-6991e-20192361>
21. Christensen P, Im Baeten C, Espín-Basany E, Martellucci J, Nugent KP, Zerbib F, et al. Management guidelines for low anterior resection syndrome – the MANUEL project. *Colorectal Dis*. 2021 Feb;23(2):461–475. <https://doi.org/10.1111/codi.15517>
22. Фоменко О. Ю., Кашников В. Н., Алексеев М. В., Веселов А. В., Белоусова С. В., Алешин Д. В. и др. Реабилитационная программа для больных раком прямой кишки с синдромом низкой передней резекции. *Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры*. 2020;97(5):52–59. <https://doi.org/10.17116/kurort20209705152>, EDN: GGNNOK
23. Luo BJ, Zheng MC, Xia Y, Ying Z, Peng JH, Li LR, et al. Assessment of defecation function after sphincter-saving resection for mid to low rectal cancer: A cross-sectional study. *Eur J Oncol Nurs*. 2021 Dec;55:102059. <https://doi.org/10.1016/j.ejon.2021.102059>
24. Nguyen TH, Chokshi RV. Low Anterior Resection Syndrome. *Curr Gastroenterol Rep*. 2020 Aug 4;22(10):48. <https://doi.org/10.1007/s11894-020-00785-z>
25. Krol R, Smeenk RJ, van Lin ENJT, Yeoh EEK, Hopman WPM. Systematic review: anal and rectal changes after radiotherapy for prostate cancer. *Int J Colorectal Dis*. 2014 Mar;29(3):273–283. <https://doi.org/10.1007/s00384-013-1784-8>
26. Ammann K, Kirchmayr W, Klaus A, Mühlmann G, Kafka R, Oberwalder M, et al. Impact of neoadjuvant chemoradiation on anal sphincter function in patients with carcinoma of the midrectum and low rectum. *Arch Surg*. 2003 Mar;138(3):257–261. <https://doi.org/10.1001/archsurg.138.3.257>
27. De Nardi P, Testoni SGG, Corsetti M, Andreoletti H, Giollo P, Passaretti S, et al. Manometric evaluation of anorectal function in patients treated with neoadjuvant chemoradiotherapy and total mesorectal excision for rectal cancer. *Dig Liver Dis*. 2017 Jan;49(1):91–97. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2016.09.005>

28. Fratta CL, Pinheiro LV, Costa FO, Magro DO, Martinez CAR, Coy CSR. Study of anorectal physiology pre and pos neoadjuvant therapy for rectal cancer by anorectal manometry and jorge-wexner score. *Arq Gastroenterol.* 2022;59(3):334–339. <https://doi.org/10.1590/S0004-2803.202203000-61>
29. Jimenez-Gomez LM, Espin-Basany E, Trenti L, Martí-Gallostra M, Sánchez-García JL, Vallribera-Valls F, et al. Factors associated with low anterior resection syndrome after surgical treatment of rectal cancer. *Colorectal Dis.* 2017 Sep 29. <https://doi.org/10.1111/codi.13901>
30. Kim JG, Song KD, Cha DI, Kim HC, Yu JI. Indistinguishable T2/T3-N0 rectal cancer on rectal magnetic resonance imaging: comparison of surgery-first and neoadjuvant chemoradiation therapy-first strategies. *Int J Colorectal Dis.* 2018 Oct;33(10):1359–1366. <https://doi.org/10.1007/s00384-018-3131-6>
31. Varma JS, Smith AN, Busuttill A. Function of the anal sphincters after chronic radiation injury. *Gut.* 1986 May;27(5):528–533. <https://doi.org/10.1136/gut.27.5.528>
32. Da Silva GM, Berho M, Wexner SD, Efron J, Weiss EG, Noguera JJ, et al. Histologic analysis of the irradiated anal sphincter. *Dis Colon Rectum.* 2003 Nov;46(11):1492–1497. <https://doi.org/10.1007/s10350-004-6800-1>
33. Rahbari NN, Elbers H, Askoxylakis V, Motschall E, Bork U, Büchler MW, et al. Neoadjuvant radiotherapy for rectal cancer: meta-analysis of randomized controlled trials. *Ann Surg Oncol.* 2013 Dec;20(13):4169–4182. <https://doi.org/10.1245/s10434-013-3198-9>
34. Кит О. И., Геворкян Ю. А., Гусарева М. А., Розенко Л. Я., Солдаткина Н. В., Харагезов Д. А. и др. Преимущества короткого и пролонгированного курса предоперационной лучевой терапии в лечении рака прямой кишки. *Вопросы онкологии.* 2018;64(1):110–115. <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2018-64-1-110-115>, EDN: XMLHKX
35. Lundby L, Krogh K, Jensen VJ, Gandrup P, Qvist N, Overgaard J, et al. Long-term anorectal dysfunction after postoperative radiotherapy for rectal cancer. *Dis Colon Rectum.* 2005 Jul;48(7):1343–1352. <https://doi.org/10.1007/s10350-005-0049-1>
36. Faaborg PM, Haas S, Liao D, Ploen J, Jakobsen A, Rahr HB, et al. Long-term anorectal function in rectal cancer patients treated with chemoradiotherapy and endorectal brachytherapy. *Colorectal Dis.* 2021 Sep;23(9):2311–2319. <https://doi.org/10.1111/codi.15692>
37. Van der Sande ME, Hupkens BJP, Berbée M, van Kuijk SMJ, Maas M, Melenhorst J, et al. Impact of radiotherapy on anorectal function in patients with rectal cancer following a watch and wait programme. *Radiother Oncol.* 2019 Mar;132:79–84. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2018.11.017>
38. De Nardi P, Testoni SGG, Corsetti M, Andreoletti H, Giollo P, Passaretti S, et al. Manometric evaluation of anorectal function in patients treated with neoadjuvant chemoradiotherapy and total mesorectal excision for rectal cancer. *Dig Liver Dis.* 2017 Jan;49(1):91–97. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2016.09.005>

Информация об авторах:

Кит Олег Иванович – академик РАН, д.м.н., профессор, генеральный директор, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 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

Бондаренко Ольга Константиновна ✉ – аспирант, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9543-4551>, SPIN: 7411-8638, AuthorID: 1223821

Геворкян Юрий Артушевич – д.м.н., профессор, заведующий отделением абдоминальной онкологии № 2, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 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 «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0118-4935>, SPIN: 8392-6679, AuthorID: 440046

Гусарева Марина Александровна – к.м.н., заведующая радиологическим отделением, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9426-9662>, SPIN: 9040-5476, AuthorID: 705242

Кошелева Наталия Геннадьевна – врач-радиотерапевт отделения радиотерапии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7630-1502>

Солнцева Анна Анатольевна – к.м.н., врач-радиотерапевт отделения радиотерапии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4052-3597>

Петров Дмитрий Сергеевич – к.м.н., заместитель генерального директора по хирургии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4562-1199>, SPIN: 1855-3496, AuthorID: 736631

Савченко Дмитрий Александрович – врач-онколог консультативно-диагностического отделения, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2496-2728>

Вклад авторов:

Кит О. И., Геворкян Ю. А. – научное редактирование, концепция и дизайн исследования;
Бондаренко О. К. – научное редактирование, подготовка, концепция и дизайн исследования;
Солдаткина Н. В. – сбор, анализ и интерпретация данных, обработка материала;
Гусарева М. А. – оформление текста;
Коселева Н. Г., Солнцева А. А. – сбор, анализ и интерпретация данных;
Петров Д. С., Савченко Д. А. – обработка материала.

Влияние гипоксии на пролиферативную активность клеток ортотопического ксенографта гепатоцеллюлярной карциномы печени в эксперименте

Т. М. Кечерюкова¹, В. С. Трифанов^{1,2}, А. А. Шульга^{1✉}, А. С. Гончарова¹, С. В. Гурова¹,
Е. П. Ульянова¹, А. Ю. Максимов¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

² Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация

✉ slip.anka96@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Оценить пролиферативную активность клеток рака печени HepG2 при моделировании гипоксических условий *in vivo*.

Материалы и методы. Культивировали клетки рака печени человека линии HepG2. Для получения ксенографта клеточную суспензию HepG2 вводили мышам подкожно в количестве 5×10^6 . Достигшие необходимого размера опухолевые узлы делили на фрагменты и трансплантировали в ортотопический сайт. В работе использовали мышей линии Balb/c Nude, которым имплантировали ксенографт рака печени HepG2. Мышей с прижившейся опухолью в печени делили на две группы – интактная и с гипоксией. Мышам из второй группы выполняли редукцию кровотока печени путем окклюзии портальной триады в течение 20 мин. На 4-е сутки после проведенных манипуляций опухолевые узлы извлекали для выполнения гистологического и иммуногистохимического окрашивания на маркер пролиферации Ki-67. Вычисляли долю позитивно окрашенных клеток и проводили статистический анализ результатов с помощью пакета программ Statistica 10.0.

Результаты. Были получены ортотопические модели рака печени у мышей линии Balb/c Nude. Проведены гистологическое и иммуногистохимическое исследования. Гистологический анализ показал, что гепатоцеллюлярная карцинома характеризуется средней степенью дифференцировки. В тканях данных ксенографтов с помощью иммуногистохимического анализа на маркер пролиферации Ki-67 удалось выявить статистически значимые различия между двумя группами – интактной и с редукцией кровотока. Доля иммунопозитивных клеток составила 65 [65–70] % и 19 [15–25] % соответственно.

Заключение. Продемонстрирована тенденция к снижению пролиферативной активности опухолевых клеток после редукции кровотока печени, то есть воздействия гипоксии. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что пролиферативная активность клеток опухоли напрямую связана с микроокружением, в частности, с гипоксической средой. Дальнейшее изучение воздействия гипоксии на процессы роста и развития злокачественных образований может способствовать более глубокому пониманию биологических характеристик опухолей и их лечения.

Ключевые слова: гипоксия, печень, HepG2, пролиферация, Ki-67, *in vivo*

Для цитирования: Кечерюкова Т. М., Трифанов В. С., Шульга А. А., Гончарова А. С., Гурова С. В., Ульянова Е. П., Максимов А. Ю. Влияние гипоксии на пролиферативную активность клеток ортотопического ксенографта гепатоцеллюлярной карциномы печени в эксперименте. Южно-Российский онкологический журнал. 2024; 5(2):35-42. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-2-4>, <https://elibrary.ru/mfunss>

Для корреспонденции: Шульга Анна Александровна – младший научный сотрудник испытательного лабораторного центра, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

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

E-mail: slip.anka96@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-1125-2897>

SPIN: 6457-4451, AuthorID: 1221869

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 «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 4/108 от 10.02.2021 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 08.11.2023; одобрена после рецензирования 08.04.2024; принята к публикации 09.05.2024

© Кечерюкова Т. М., Трифанов В. С., Шульга А. А., Гончарова А. С., Гурова С. В., Ульянова Е. П., Максимов А. Ю., 2024

Hypoxia effect on proliferative activity of cells in orthotopic xenograft of hepatocellular carcinoma of the liver in the experiment

T. M. Kecheryukova¹, V. S. Trifanov^{1,2}, A. A. Shulga^{1✉}, A. S. Goncharova¹, S. V. Gurova¹, E. P. Ulyanova¹, A. Yu. Maksimov¹

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

² P. A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

✉ slip.anka96@mail.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. The purpose of this research was to investigate the effect of *in vivo* hypoxic conditions on the proliferative potential of HepG2 liver cancer cells.

Materials and methods. Human liver cancer cells of the HepG2 line have been cultured. The HepG2 cell suspension was injected subcutaneously into mice in an amount of 5×10^6 to obtain a xenograft. Tumor nodes that had reached the required size were divided into fragments and transplanted into the orthotopic site. Balb/c nude mice with implanted HepG2 liver cancer xenograft were used in this experiment. The mice with tumor implanted in the liver were divided into two groups, intact and hypoxic. Mice from the second group underwent liver blood flow reduction by occlusion of the portal triad for 20 minutes. Tumor nodes were extracted for histological and immunohistochemical staining for proliferation marker Ki-67 on the 4th day after the procedures. The proportion of positively stained cells was calculated, and the results were statistically analyzed using the Statistica 10.0 software.

Results. Orthotopic models of liver cancer in Balb/c Nude mice were obtained. Histological and immunohistochemical studies were carried out. Histological analysis showed that hepatocellular carcinoma is characterized by an average degree of differentiation. In the tissues of these xenografts, by using immunohistochemical analysis for the proliferation marker Ki-67, it was possible to identify statistically significant differences between the two groups, i.e. intact and the one with reduction of blood flow. The proportion of immunopositive cells was 65 [65–70] % and 19 [15–25] %, respectively.

Conclusion. A tendency to decreased proliferative activity of tumor cells after hepatic blood flow reduction, i.e. hypoxia exposure, was demonstrated. Our data indicate that the proliferative activity of tumor cells is directly related to the microenvironment, and to the hypoxic environment in particular. Further study of the effect of hypoxia on the processes of growth and development of malignant tumors may contribute to a deeper understanding of the biological features of tumors and their treatment.

Keywords: hypoxia, liver, HepG2, proliferation, Ki-67, *in vivo*

For citation: Kecheryukova T. M., Trifanov V. S., Shulga A. A., Goncharova A. S., Gurova S. V., Ulyanova E. P., Maksimov A. Yu. Hypoxia effect on proliferative activity of cells in orthotopic xenograft of hepatocellular carcinoma of the liver in the experiment. South Russian Journal of Cancer. 2024; 5(2): 35-42. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-2-4>, <https://elibrary.ru/mfunss>

For correspondence: Anna A. Shulga – junior researcher at the Testing 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: slip.anka96@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-1125-2897>

SPIN: 6457-4451, AuthorID: 1221869

Compliance with ethical standards: when performing this study, all manipulations with laboratory animals were carried out in compliance with the Rules and Regulations for Carrying Out Animal Research Work. The study was approved by the Ethics Committee of the National Medical Research Center for Oncology (Protocol No. 4/108 dated 02/10/2021)

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 08.11.2023; approved after reviewing 08.04.2024; accepted for publication 09.05.2024

ВВЕДЕНИЕ

Гипоксическая среда, отличительной чертой которой является низкий уровень кислорода, играет важнейшую роль в процессах выживания и репрограммирования клеток. Этот факт подтверждают многочисленные работы по изучению эволюции и развития организмов [1, 2]. В частности, установлено, что нормальное развитие млекопитающих происходит в условиях гипоксии (от умеренной до тяжелой), которая регулирует многие аспекты онтогенеза и морфогенеза. Кроме того, известно, что кислородный градиент является важным регулятором клеточных процессов как при физиологических, так и при многих патологических состояниях, в том числе и при злокачественных заболеваниях [3].

Внезапное и кратковременное воздействие гипоксии (от нескольких минут до 72 часов), возникающей вследствие колебаний перфузии опухоли, сопровождается функциональными и структурными дефектами сосудистой сети опухоли. Подобное воздействие может привести к образованию высоких уровней активных форм кислорода (АФК), которые могут повредить клетки [4]. Гипоксия также может вызывать остановку роста раковых клеток, замедление пролиферации и, в последующем, их гибель. Было показано, что факторы, индуцируемые гипоксией, непосредственно влияют на пролиферативную активность опухолевых клеток [5]. Самый широко используемый маркер пролиферации как в нормальных, так и в опухолевых клетках – белок Ki-67. Он участвует в клеточном цикле, вовлекаясь в биогенез рибосом, организацию гетерохроматина и разделение митотических хромосом [6]. Индекс Ki-67 позволяет оценить степень злокачественности опухоли и прогнозировать течение заболевания в совокупности с другими факторами. Установлена прямая коррелятивная зависимость между количеством опухолевых клеток, экспрессирующих Ki-67, и стадией злокачественных заболеваний [7, 8]. Проллиферативный потенциал и выживаемость раковых клеток возможно модулировать, создавая гипоксические условия, что активно используется при таких терапевтических процедурах, как трансартериальная эмболизация и трансартериальная химиоэмболизация [9]. Однако известно также, что гипоксия имеет решающее значение для выживания устойчивых к воздействию среды с низким содержанием кислорода клеток, характеризующихся резистентностью к терапевтическим воздействиям и повышенной инвазивной способностью [10].

В связи с этим всестороннее изучение ответа опухоли на гипоксию, а также понимание ее положительных и отрицательных эффектов расширят представления о механизмах взаимодействия раковых клеток и особенностях их микроокружения.

Влияние уровня оксигенации изучается с использованием различных подходов, в том числе *in vitro*, также возможно применение методов изолированных первичных опухолей, однако они не вполне точно отражают реальные параметры опухолевого микроокружения [11]. Анализ литературных данных показывает, что наиболее достоверные и надежные данные можно получить с помощью *in vivo* методов, которые позволяют более точно, по сравнению с другими исследовательскими подходами, моделировать влияние гипоксии на активность злокачественных новообразований и их пролиферативный потенциал, что может иметь важное значение для планирования дальнейших трансляционных исследований [12, 13].

Цель исследования: оценить пролиферативную активность клеток рака печени HepG2 при моделировании гипоксических условий *in vivo*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Лабораторные животные и их содержание

Для проведения данного эксперимента использовали мышей с иммунодефицитом линии Balb/c Nude ($n = 14$) возрастом 10–12 недель и весом 25–27 г, полученных из ядра разводки вивария ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Мыши находились в ИВК-системе (индивидуально вентилируемые клетки), корм и воду предоставляли без ограничений. Все работы с экспериментальными животными проводили в соответствии с этическим принципом Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETSN 123, Страсбург, 18 марта 1986 г). Данный эксперимент был одобрен решением локального биоэтического комитета ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Культура клеток рака печени человека

Клетки рака печени человека линии HepG2 культивировали в соответствии со стандартной методикой с использованием питательной среды для культуры клеток DMEM с добавлением те-

лячьей сыворотки (Gibco, Thermo Fisher Scientific) в концентрации 10 %, а также 1 % пенициллина и стрептомицина. Культивирование осуществляли в CO₂ –инкубаторе (Thermo Fisher Scientific, 8000W) при влажной атмосфере – 37 °С, 5 % CO₂.

Создание ортотопической модели рака печени

Первоначально перед проведением эксперимента нами был создан ксенографт рака печени с помощью подкожного введения клеточной суспензии HepG2 в количестве 5×10^6 клеток мышам Balb/c Nude ($n = 2$). Когда полученные подкожные ксенографты достигли диаметра 1–1,5 см, мышам подвергали эвтаназию, опухолевые узлы извлекали и делили на фрагменты размером примерно $1 \times 1 \times 1$ мм для дальнейшей трансплантации в печень. Доступ к печени осуществляли путем выполнения лапаротомии предварительно наркотизированным животным-реципиентам. В левой доли печени производили надрез, после чего полученные ранее фрагменты опухоли помещали в паренхиму левой доли печени с помощью анатомического пинцета. После проведенных манипуляций рану зашивали обвивным швом.

Создание гипоксических условий путем редукции кровотока печени

Через 2 нед. после того, как были имплантированы опухолевые фрагменты мышам в печень, выполнялась еще контрольная лапаротомия для измерения объема опухолевых узлов. Чтобы определить размеры опухолевого узла, использовали формулу: $V = LW^2/2$, где L – длина опухоли, W – ширина опухоли. Затем животных разделили на 2 группы ($n = 6$ для каждой), критерием распределения являлся размер опухолевого узла, при этом значения среднего объема опухолевых узлов в группах различались с минимальным интервалом. Первая группа – интактная, вторая группа – с редукцией кровотока печени. Для того, чтобы обеспечить доступ к печени и ее кровеносным сосудам, мышам второй группы выполняли лапаротомию. Затем для осуществления окклюзии сосудов портальной триады печени иглу с шовным материалом подводили под ними и с помощью натяжения шовного материала производили редукцию кровотока в течение 20 мин. После этого натяжение шовного материала убрали для восстановления кровоснабжения печени и послойно ушивали операционную рану. Мышам первой группы проводили контрольную лапаротомию без редукции кровотока.

Эвтаназия

На 4-е сутки после проведенных хирургических манипуляций животных подвергали эвтаназии для извлечения опухолевых узлов. Эвтаназию проводили путем дислокации шейных позвонков.

Гистологическое и иммуногистохимическое (ИГХ) исследования

Полученный опухолевый материал фиксировали в 10 % формалине 24 ч, затем заключали в парафин, при помощи роторного микротомы делали срезы, которые в дальнейшем подвергали депарафинизации по стандартному протоколу. Для гистологического исследования выполняли окрашивание гематоксилином и эозином. ИГХ-окрашивание проводили в автоматическом режиме в иммуногистостейнере BenchMark ULTRA Ventana согласно протоколам фирм-производителей, прилагаемым к используемым антителам. Использовали антитела Ki-67 (клон SP6), CellMarque в разведении 1:200. Для анализа экспрессии Ki-67 опухолевыми клетками вычисляли долю клеток с окрашенными ядрами (процент от общего количества опухолевых клеток) не менее чем в 10 случайных полях зрения.

Статистический анализ

Результаты, полученные в ходе эксперимента, анализировали при помощи пакета программ Statistica 10.0. Данные представлены в виде медианы, 25-го и 75-го перцентилей. Сравнительный анализ различий ядерного окрашивания Ki-67 между группами проводили с помощью статистического критерия Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе выполнения эксперимента были получены ортотопические модели рака печени у мышам линии Balb/c Nude при помощи имплантации фрагмента ксенографта клеточной линии HepG2 непосредственно в левую долю печени [14]. Контрольная лапаротомия позволила продемонстрировать, что у всех животных развились опухолевые узлы в левой доле печени. Результаты измерений показали, что через 2 нед. после имплантации фрагмента ксенографта HepG2 в печень размер внутривисцеральных опухолевых узлов составил $130,27 [42,88–345,3]$ мм³ (рис. 1).

После выполнения процедуры контрольной лапаротомии животные были распределены на 2 группы. С целью индукции гипоксических условий жи-

вотным группы 2 выполняли редукцию кровотока печени (рис. 2). Для этого правую долю печени смещали ближе к диафрагме, что способствовало свободному доступу к портальной триаде. Пережатие сосудов портальной триады при помощи шовного материала позволило достигнуть редукции кровотока печени и расположенного в ней опухолевого узла, что визуально подтверждалось изменением цвета печени, в результате недостаточного кровоснабжения орган становился более бледным. После восстановления кровоснабжения печень снова приобретала темно-бордовый цвет.

Результаты гистологического исследования показали в тканях печени очаг гепатоцеллюлярной карциномы, характеризующейся средней степенью дифференцировки, представленной солидно-

трабекулярными структурами, в толще которых расположены сосуды. Локально присутствуют фокусы некроза. Клеточный состав представлен крупными эпителиальными клетками, напоминающими гепатоциты. Внутри клеток просматриваются крупные полиморфные ядра с зернистым хроматином и хорошо различимыми ядрышками. Также обнаруживаются фигуры митоза, в том числе атипических форм (рис. 3).

При иммуногистохимическом исследовании экспрессии маркера пролиферации Ki-67 в тканях ксенографтов рака печени количество иммунопозитивных клеток составило 65 [65–70] % (рис. 4А), в группе с редукцией кровотока количество окрашенных ядер было статистически значимо меньше, что составило 19 [15–25] % ($p < 0,001$) (рис. 4Б).



Рис. 1. Измерение опухолевого узла в печени мыши

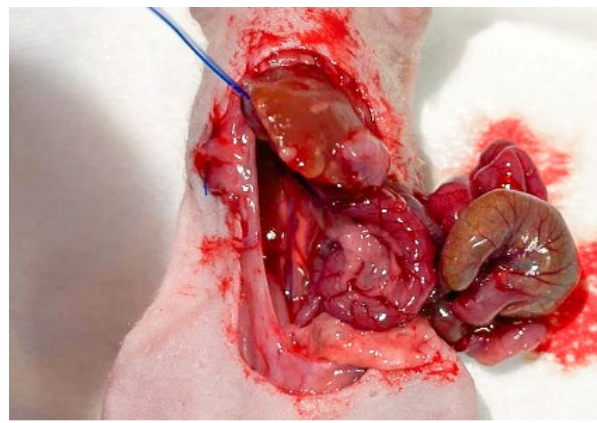


Рис. 2. Выполнение редукции кровотока печени путём окклюзии портальной триады для индукции гипоксических условий

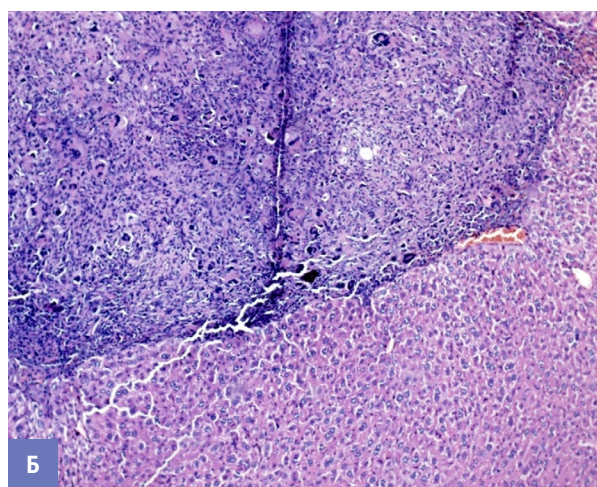
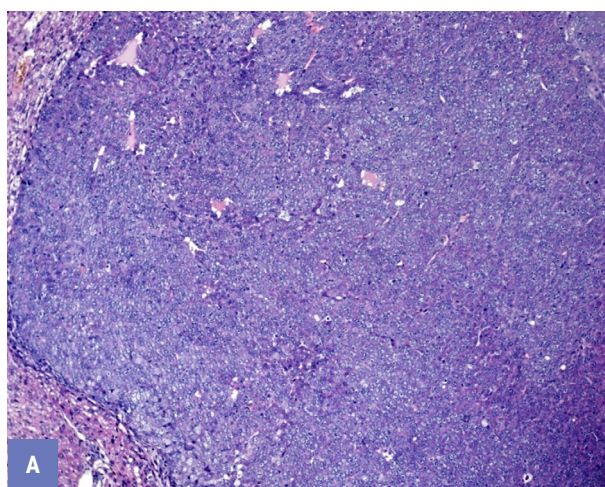


Рис. 3. Гистологический препарат: морфологическая картина гепатоцеллюлярной карциномы. А – без гипоксии; Б – после гипоксии. Увеличение $\times 100$

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что гипоксия является важным фактором, который может способствовать формированию клеточной пластичности и гетерогенности опухоли, влияя на фенотип и функции клеток. Однако, несмотря на внушительный массив данных, представленных в научной литературе, можно наблюдать отсутствие корреляции между различными методами изучения влияния уровня кислорода, поскольку все они предоставляют информацию о различных нозологиях, не единообразных временных и топологических точках забора опухолевого материала, или, например, оксигенации крови. С этой точки зрения применение животных моделей позволяет, насколько это возможно, привести к единообразию условий эксперимента и получать воспроизводимые результаты, выполняя серийные эксперименты. Учитывая перечисленные преимущества подхода *in vivo*, нами был выполнен эксперимент по изучению влияния низкой оксигенации на клетки рака печени. Результаты ИГХ исследования показали, что в опухолевых образцах животных с редукцией кровотока наблюдалось более низкое значение маркера пролиферации Ki-67. Анализ литературных данных показал, что в работах других авторов прослеживается непосредственная связь гипоксии с пролиферативным потенциалом опухолевых клеток. Например, исследование опухолей эндометрия показало, что уровень экспрессии Ki-67 обратно коррелирует с уровнем экспрессии

фактора, индуцируемого гипоксией (HIF-1 α), что говорит о низкой пролиферативной активности клеток в условиях недостатка кислорода. К тому же, такая корреляция может способствовать снижению эффекта противораковых препаратов, таких как метформин [15]. Также в работе по визуализации гипоксии раковых клеток животных и онкологических больных установлено, что опухолевые клетки в выпотах и микрометастазах находились в состоянии высокой гипоксии и низкой пролиферации независимо от типа опухоли. В данной работе образцы опухолевых клеток человека и животных моделей исследовали методом ИГХ на HIF-1 α , транспортер глюкозы (GLUT-1) и маркер пролиферации (Ki-67). Кроме того, было убедительно продемонстрировано, что асцит представляет собой среду с очень низким уровнем оксигенации, так как клетки, плавающие в нем, не имеют адекватного кровоснабжения и могут выживать только за счет гликолиза. Важно отметить, что авторы упоминают о том, что опухолевая гипоксия является движущим фактором резистентности к лучевой терапии и химиотерапии [16].

В нашем исследовании в опухолевых образцах животных с редукцией кровотока был отмечен низкий уровень экспрессии Ki-67, однако, при этом в тканях опухоли наблюдалась зональность в расположении положительно окрашенных клеток. Клетки, экспрессирующие Ki-67, концентрировались вдоль зон опухоли, непосредственно соприкасающейся с интактной тканью печени. Известно,

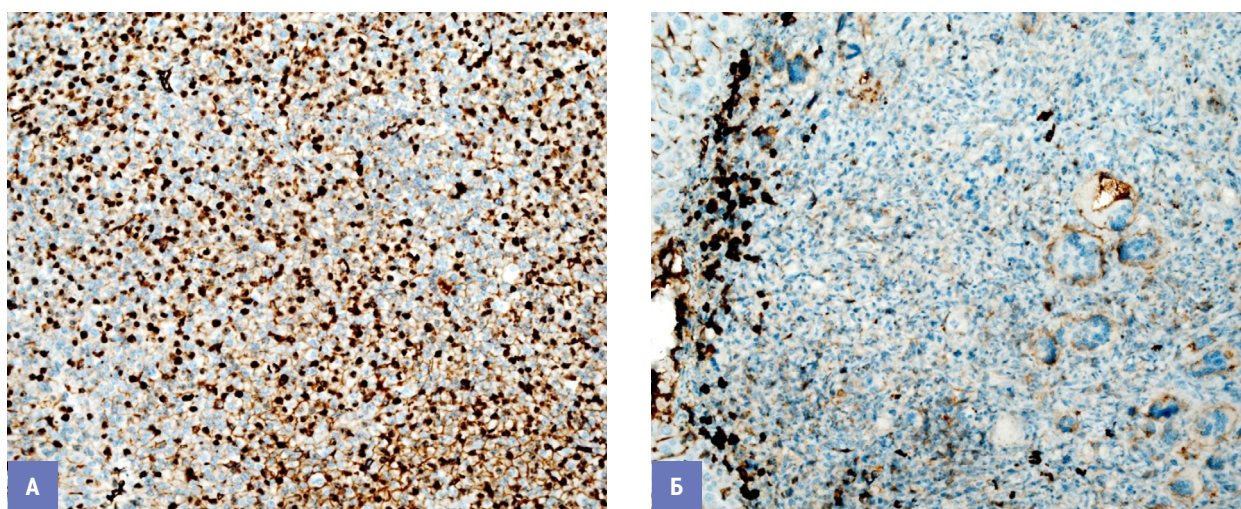


Рис. 4. ИГХ реакция опухоли на антитела к Ki-67 (клона SP6). А – без редукции кровотока печени; Б – после редукции кровотока печени путём окклюзии портальной триады. Увеличение $\times 200$

что так называемый «фронт инвазии» опухоли образуют клетки, расположенные на ее поверхности, и именно они формируют паттерны инвазии и опухолевого распространения. Учитывая этот факт, можно предположить, что клетки, сохранившие свой пролиферативный потенциал, несмотря на воздействие гипоксических условий, возникших в результате редукции кровотока, и расположенные по краю опухолевого узла, могут обладать повышенным инвазивным потенциалом. Помимо этого, наблюдаемая зональность экспрессии Ki-67, вероятно, может быть связана с близостью или удаленностью от кровеносных сосудов с редуцированным кровотоком.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данном исследовании было показано, что опухоли печени мышей, подвергнутых процедуре редукции кровотока печени, характеризовались более низкими показателями Ki-67. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что пролиферативная активность клеток опухоли напрямую связана с микроокружением, в частности, с гипоксической средой. Дальнейшее изучение воздействия гипоксии на процессы роста и развития злокачественных образований может способствовать более глубокому пониманию биологических характеристик опухолей и возможности их лечения.

Список источников

1. Semenza GL. Oxygen sensing, hypoxia-inducible factors, and disease pathophysiology. *Annu Rev Pathol.* 2014;9:47–71. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-012513-104720>
2. Fitzpatrick SF. Immunometabolism and Sepsis: A Role for HIF? *Front Mol Biosci.* 2019 Sep 6;6:85. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2019.00085>
3. Jing X, Yang F, Shao C, Wei K, Xie M, Shen H, et al. Role of hypoxia in cancer therapy by regulating the tumor microenvironment. *Mol Cancer.* 2019 Nov 11;18(1):157. <https://doi.org/10.1186/s12943-019-1089-9>
4. Hsieh CH, Lee CH, Liang JA, Yu CY, Shyu WC. Cycling hypoxia increases U87 glioma cell radioresistance via ROS induced higher and long-term HIF-1 signal transduction activity. *Oncol Rep.* 2010 Dec;24(6):1629–1636. https://doi.org/10.3892/or_00001027
5. Wu J, Li S, Huang Y, Zeng Z, Mei T, Wang S, et al. MRI features of pituitary adenoma apoplexy and their relationship with hypoxia, proliferation, and pathology. *J Clin Ultrasound.* 2023;51(6):1078–1086. <https://doi.org/10.1002/jcu.23492>
6. Dewhirst MW, Ong ET, Braun RD, Smith B, Klitzman B, Evans SM, et al. Quantification of longitudinal tissue pO₂ gradients in window chamber tumours: impact on tumour hypoxia. *Br J Cancer.* 1999 Apr;79(11–12):1717–1722. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6690273>
7. Bristow RG, Berlin A, Dal Pra A. An arranged marriage for precision medicine: hypoxia and genomic assays in localized prostate cancer radiotherapy. *Br J Radiol.* 2014 Mar;87(1035):20130753. <https://doi.org/10.1259/bjr.20130753>
8. Кит О. И., Держанова И. С., Карнаухов Н. С. Вопросы классификации нейроэндокринных опухолей желудка. *Вопросы онкологии.* 2016;62(5):573–579. EDN: WWOQFF
9. Petrillo M, Patella F, Pesapane F, Suter MB, Ierardi AM, Angileri SA, et al. Hypoxia and tumor angiogenesis in the era of hepatocellular carcinoma transarterial loco-regional treatments. *Future Oncol.* 2018 Dec;14(28):2957–2967. <https://doi.org/10.2217/fon-2017-0739>
10. Fei M, Guan J, Xue T, Qin L, Tang C, Cui G, et al. Hypoxia promotes the migration and invasion of human hepatocarcinoma cells through the HIF-1 α -IL-8-Akt axis. *Cell Mol Biol Lett.* 2018;23:46. <https://doi.org/10.1186/s11658-018-0100-6>
11. Гончарова А. С., Гурова С. В., Кечерюкова Т. М., Максимов А. Ю., Лаптева Т. О., Романова М. В. и др. Моделирование гипоксии печени в эксперименте *in vivo*. *Якутский медицинский журнал.* 2023;(2(82)):5–8. <https://doi.org/10.25789/YMJ.2023.82.01>, EDN: WBXQQT
12. Ron A, Deán-Ben XL, Gottschalk S, Razansky D. Volumetric Optoacoustic Imaging Unveils High-Resolution Patterns of Acute and Cyclic Hypoxia in a Murine Model of Breast Cancer. *Cancer Res.* 2019 Sep 15;79(18):4767–4775. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-3769>
13. Гурова С. В., Кечерюкова Т. М., Гончарова А. С., Колесников Е. Н., Кожушко М. А., Татимов М. З. Модели рака печени *in vivo*. *Современные проблемы науки и образования.* 2023;(4):136. <https://doi.org/10.17513/spno.32707>, EDN: XFEYBT

14. Кечерюкова Т. М., Гурова С. В., Гончарова А. С., Максимов А. Ю., Галина А. В., Романова М. В. и др. Сравнительная оценка методов создания ортотопической модели рака печени. *Современные проблемы науки и образования*. 2023;(2):94. <https://doi.org/10.17513/spno.32565>, EDN: ZFJIHU
15. Sivalingam VN, Latif A, Kitson S, McVey R, Finegan KG, Marshall K, et al. Hypoxia and hyperglycaemia determine why some endometrial tumours fail to respond to metformin. *Br J Cancer*. 2020 Jan;122(1):62–71. <https://doi.org/10.1038/s41416-019-0627-y>
16. Li Y, Zhao L, Huo Y, Yang X, Li Y, Xu H, et al. Visualization of hypoxia in cancer cells from effusions in animals and cancer patients. *Front Oncol*. 2022;12:1019360. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.1019360>

Информация об авторах:

Кечерюкова Тахмина Мажитовна – врач по рентгенэндоваскулярным диагностике и лечению отделения абдоминальной онкологии № 1, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8092-6457>

Трифанов Владимир Сергеевич – д.м.н., доцент, заведующий центром абдоминальной хирургии, врач-хирург, ведущий научный сотрудник филиала Московского научно-исследовательского онкологического института им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация; ведущий научный сотрудник торако-абдоминального отделения, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1879-6978>, SPIN: 3710-8052, AuthorID: 453981

Шульга Анна Александровна – младший научный сотрудник испытательного лабораторного центра, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-1125-2897>, SPIN: 6457-4451, AuthorID: 1221869

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

Гурова Софья Валерьевна – младший научный сотрудник испытательного лабораторного центра, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9747-8515>, SPIN: 5413-6901, AuthorID: 1147419

Ульянова Елена Петровна – научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5226-0152>, SPIN: 1243-9475, AuthorID: 759154, Scopus Author ID: 57203357998

Максимов Алексей Юрьевич – д.м.н., профессор, заместитель генерального директора по перспективным научным разработкам, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1397-837X>, SPIN: 7322-5589, AuthorID: 710705

Вклад авторов:

Кечерюкова Т. М. – проведение эксперимента;
Трифанов В. С. – редактирование текста;
Шульга А. А. – написание текста, статистический анализ;
Гончарова А. С. – поиск литературных данных, написание текста;
Гурова С. В. – проведение эксперимента;
Ульянова Е. П. – гистологический анализ;
Максимов А. Ю. – редактирование текста.

Динамика уровней цитокинов слюны при проведении интраоперационной фотодинамической терапии у больных местно-распространенным раком полости рта

Е. Ю. Комарова^{✉1}, Е. Ю. Златник¹, Е. Ф. Комарова^{1,2}, И. А. Новикова¹, Е. А. Дженкова¹, М. А. Енгибарян¹, А. Б. Сагакянц¹, В. В. Позднякова¹, Л. Я. Розенко¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

²ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

✉ lil_liza777@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Оценка уровня некоторых цитокинов в слюне больных первичным местно-распространенным раком слизистой оболочки полости рта при дополнении хирургического лечения интраоперационной ФДТ (ИФДТ).

Пациенты и методы. Пациенты первичным местно-распространенным раком слизистой оболочки полости рта Т3-4aN0-2M0 были распределены в 2 группы: основная группа (30 больных) – проведено радикальное удаление опухоли, дополненное ИФДТ и контрольная группа (30 пациентов) – без дополнения. ИФДТ проводили с помощью «Латус-Т» (фара) и фотосенсибилизатором хлорин Е6. Уровни цитокинов определяли в нестимулированной цельной слюне за сутки до, на 3-и и на 7-е сутки после проведения операции методом ИФА мультиплекс-анализа.

Результаты. Показана сходная динамика цитокинового профиля больных обеих групп: на 3-и сутки после операции уровни G-CSF, IL-6, MIP-1 β повышались, а GM-CSF и IFN- γ снижались по сравнению с исходными показателями. На 7-е сутки характер динамики G-CSF, GM-CSF, IL-6 сохранялся, а IL-8, IL-10, IL-12 менялся на противоположный.

Межгрупповые различия выявлены по уровню IL-1 β – на 3-и сутки повышение в основной и снижение в контрольной группе. Уровень IL-7 на 7-е сутки резко снижался в контрольной группе и статистически значимо повышался у больных, получавших ИФДТ. В основной группе показано 4,8-кратное повышение IL-8 на 3-и сутки и его 3,6-кратное падение на 7-е с противоположной динамикой в контрольной. Уровень TNF- α возрастал только в основной группе на 7-е сутки, а в контрольной отмечено его снижение на 3-и и восстановление на 7-е сутки. На 3-и сутки уровень MCP-1 возрастал в основной и снижался в контрольной группе. Уровень IL-17 в основной группе нарастал на 3-и сутки с дальнейшим снижением ниже исходного, а в контрольной группе снижался на 3-и сутки с последующим восстановлением на 7-е. Нарастание уровней IL-5 и IL-13 на 3-и сутки отмечены только в контрольной группе, однако уровень IL-5 в оба срока исследования в основной группе был ниже, чем в контрольной.

Заключение. ИФДТ у больных первичным местно-распространенным раком полости рта вызывает изменения цитокинового состава слюны в течение первой недели после операции, часть из которых можно связать с удлинением безрецидивного периода у таких пациентов.

Ключевые слова: интраоперационная фотодинамическая терапия, цитокины, слюна, первичный местно-распространенный рак полости рта

Для цитирования: Комарова Е. Ю., Златник Е. Ю., Комарова Е. Ф., Новикова И. А., Дженкова Е. А., Енгибарян М. А., Сагакянц А. Б., Позднякова В. В., Розенко Л. Я. Динамика уровней цитокинов слюны при проведении интраоперационной фотодинамической терапии у больных местно-распространенным раком полости рта. Южно-Российский онкологический журнал. 2024; 5(2):43-52. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-2-5>, <https://elibrary.ru/nusqxr>

Для корреспонденции: Комарова Елизавета Юрьевна – аспирант, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63
E-mail: lil_liza777@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1252-8094>
SPIN: 9372-1954, AuthorID: 1198314
Scopus Author ID: 57217081452

Соблюдение этических стандартов: в работе соблюдались этические принципы, предьявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ред. 2013). Исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (выписка из протокола заседания № 15 от 12.10.2021 г.). Информированное согласие получено от всех участников исследования

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось

Конфликт интересов: Златник Е. Ю., Дженкова Е. А., Енгибарян М. А. являются членами редакционной коллегии журнала «Южно-Российский онкологический журнал» с 2019 г., но не имеют никакого отношения к решению опубликовать эту статью. Статья прошла принятую в журнале процедуру рецензирования. Об иных конфликтах интересов авторы не заявляли

Статья поступила в редакцию 16.11.2023; одобрена после рецензирования 08.02.2024; принята к публикации 09.05.2024

© Комарова Е. Ю., Златник Е. Ю., Комарова Е. Ф., Новикова И. А., Дженкова Е. А., Енгибарян М. А., Сагакянц А. Б., Позднякова В. В., Розенко Л. Я., 2024

Dynamics of saliva cytokine levels during intraoperative photodynamic therapy in patients with locally advanced oral cancer

E. Yu. Komarova^{✉1}, E. Yu. Zlatnik¹, E. F. Komarova^{1,2}, I. A. Novikova¹, E. A. Dzhenkova¹, M. A. Engibaryan¹, A. B. Sagakyants¹, V. V. Pozdnyakova¹, L. Ya. Rozenko¹

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

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

✉ lil_liza777@mail.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. Assessment of the level of certain cytokines in the saliva of patients with primary locally advanced cancer of the oral mucosa in addition to surgical treatment with intraoperative PDT (IPDT).

Patients and methods. Patients with primary locally advanced cancer of the oral mucosa T3-4aN0-2M0 were divided into 2 groups: the main group (30 patients) underwent radical tumor removal supplemented with IPDT and the control group (30 patients) without addition. IPDT was performed using Latus-T (farah) and a chlorin E6 photosensitizer. Cytokine levels were determined in unstimulated whole saliva the day before, on the 3rd and on the 7th day after the operation by the ELISA multiplex analysis method.

Results. A similar dynamic of the cytokine profile of patients of both groups was shown: on the 3rd day after surgery, the levels of G-CSF, IL-6, MIP-1 β increased, and GM-CSF and IFN- γ decreased compared with baseline values. On the 7th day, the dynamics of G-CSF, GM-CSF, IL-6 persisted, while IL-8, IL-10, IL-12 changed to the opposite.

Intergroup differences were revealed in the level of IL-1 β – on day 3, an increase in the main group and a decrease in the control group. The level of IL-7 on day 7 decreased sharply in the control group and increased statistically significantly in patients receiving IPDT. The main group showed a 4.8-fold increase in IL-8 on day 3 and its 3.6-fold drop on day 7 with the opposite dynamics in the control group. The TNF- α level increased only in the main group on day 7, and in the control group it decreased by 3 and recovered on day 7. On day 3, the MCP-1 level increased in the main group and decreased in the control group. The level of IL-17 in the main group increased on the 3rd day with a further decrease below the baseline, and in the control group it decreased on the 3rd day, followed by a recovery on the 7th. An increase in IL-5 and IL-13 levels on day 3 was noted only in the control group, however, the level of IL-5 in both study periods in the main group was lower than in the control group.

Conclusion. IPDT in patients with primary locally advanced oral cancer causes changes in the cytokine composition of saliva during the first week after surgery, some of which can be associated with an elongation of the relapse-free period in such patients.

Keywords: intraoperative photodynamic therapy, cytokines, saliva, primary locally advanced oral cancer

For citation: Komarova E. Yu., Zlatnik E. Yu., Komarova E. F., Novikova I. A., Dzhenkova E. A., Engibaryan M. A., Sagakyants A. B., Pozdnyakova V. V., Rozenko L. Ya. Dynamics of saliva cytokine levels during intraoperative photodynamic therapy in patients with locally advanced oral cancer. South Russian Journal of Cancer. 2024; 5(2):43-52. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-2-5>, <https://elibrary.ru/nusqxr>

For correspondence: Elizaveta Yu. Komarova – 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: lil_liza777@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1252-8094>

SPIN: 9372-1954, AuthorID: 1198314

Scopus Author ID: 57217081452

Compliance with ethical standards: the work followed the ethical principles set forth by the World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ed. 2013. The study was approved by the Ethics Committee of the National Medical Research Center of Oncology (extract from the protocol of the meeting No. 15 dated 10/12/2021). Informed consent was received from all participants of the study

Funding: this work was not funded

Conflict of interest: Zlatnik E. Yu., Dzhenkova E. A., Engibaryan M. A. have been the member of the editorial board of the South Russian Journal of Cancer since 2019, however he has no relation to the decision made upon publishing this article. The article has passed the review procedure accepted in the journal. The authors did not declare any other conflicts of interest

The article was submitted 16.11.2023; approved after reviewing 08.02.2024; accepted for publication 09.05.2024

АКТУАЛЬНОСТЬ

В настоящее время признано, что под влиянием воспаления неопластические и стромальные клетки взаимодействуют и контролируют эволюцию опухоли, продуцируя цитокины, которые модулируют противоопухолевый иммунный ответ [1–3]. Продемонстрировано сходство цитокинового паттерна для опухолей различной локализации и гистогенеза [4], однако нет единого мнения, играют ли цитокины решающую проонкогенную или антионкогенную роль [5]. Как ту, так и другую можно предположить исходя из известных биологических свойств цитокинов как стимуляторов, с одной стороны, пролиферации и неоангиогенеза, а с другой стороны – иммунного ответа.

В последние десятилетия показано участие различных про- или противовоспалительных цитокинов опухолевого микроокружения плоскоклеточного рака полости рта в онкогенезе опухоли данной локализации [6–8]. Большинство исследований описывают повышенные уровни IL-1 β , 6, 8, 10, TNF- α у больных раком полости рта по сравнению со здоровыми как на локальном, так и на системном уровне [9, 10]. Более того, было продемонстрировано большее содержание IL-1 β и IL-6 в опухоли слизистой оболочки полости рта, чем в участках неизменной слизистой [11]. Данные литературы показывают, что гиперпродукция цитокинов клетками опухоли и ее микроокружения у больных раком полости рта является одной из причин распространения опухоли.

Таким образом, при разработке подходов к лечению рака полости рта представляется важным анализ локального и системного цитокинового статуса таких пациентов, а также индукция противоопухолевого иммунного ответа. Последнее возможно осуществить посредством использования фотодинамической терапии (ФДТ), одним из механизмов противоопухолевой эффективности которой является иммуногенная гибель клеток [12]. ФДТ индуцирует ее через высвобождение молекулярных паттернов, ассоциированных с повреждениями (DAMPs) [13]. Индуцированные ФДТ острое воспаление и иммуногенная гибель клеток считаются начальным шагом реализации ее иммуностимулирующего действия [14], которое проявляется в опухолеспецифическом иммунном ответе [15]. Роль и место иммунных механизмов в реализации противоопухолевого эффекта ФДТ обобщены в недавнем обзоре [14].

Цель исследования: оценка уровня некоторых цитокинов в слюне больных первичным местно-распространенным раком слизистой оболочки полости рта при дополнении хирургического лечения интраоперационной ФДТ (ИФДТ).

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В группу исследования были включены 60 пациентов первичным местно-распространенным раком слизистой оболочки полости рта, находившихся на лечении отделения опухолей головы и шеи ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Средний возраст пациентов составил $63,1 \pm 14,3$ года. Распределение пациентов по полу составило: мужского – 48 человек, женского – 12 человек. У всех пациентов диагноз был морфологически верифицирован и соответствовал III–IV стадиям (T3–4aN0–2M0) онкологического заболевания. По морфологической структуре опухоли были представлены плоскоклеточным раком, из них умеренно дифференцированный – 79 %, высокодифференцированный – 16 % и низкодифференцированный – 5 %.

Пациенты были рандомизированы в 2 группы: основная группа (30 больных) – пациенты, которым проведено радикальное удаление опухоли, дополненное ИФДТ, и контрольная группа (30 пациентов) – без дополнения. Пациенты в группах были сопоставимы по возрасту, полу и по локализации первичного очага. Всем пациентам производилось хирургическое вмешательство в объеме радикального удаления опухоли языка и слизистой оболочки полости рта с шейной лимфаденэктомией в объеме, адекватном распространенности опухолевого процесса, на стороне поражения или двухсторонняя (при поражении передних отделов полости рта).

Проведение исследования было одобрено этическим комитетом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации протокол № 15 от 12.10.2021 г., всеми больными было подписано добровольное информированное согласие.

ИФДТ проводили в соответствии с разработанным и запатентованным способом (Патент РФ № 2797433) [15]. На первом этапе больным местно-распространенным раком слизистой оболочки полости рта и языка проводили хирурги-

ческое лечение, а затем, после гемостаза послеоперационной раны полости рта, проводили ФДТ, предварительно закрыв здоровые окружающие ткани вокруг операционного поля стерильными восьмислойными марлевыми салфетками. Для сеанса использовали «Латус-Т» (фару), с параметрами: длина волны 662 нм, плотность мощности 45 мВт, световая энергия 200–300 Дж/см². Лампы размещали таким образом, что площадь излучения лазерного света охватывала как ложе удаленной опухоли, так и края операционной раны. Продолжительность воздействия рассчитывалась в зависимости от размера ложа удаленной опухоли полости рта по формуле: $T = T_0 \times pw/kp$, где T_0 – табличное значение времени облучения, pw – коэффициент, показывающий во сколько раз плотность энергии WS (Дж/см²), которую необходимо набрать поверхности, отличается от табличной $WS/0 = 100$ Дж/см²: $pw = WS/100$, kp – коэффициент, показывающий во сколько раз мощность лазера отличается от табличной $P_0 = 100$ мВт: $kp = P/100$. После завершения этапа фотодинамической терапии, выполняли пластику послеоперационного дефекта. В качестве фотосенсибилизатора использовали хлорин Е6, который вводили внутривенно капельно в разовой дозе 2 мг на 1 кг веса пациента за 3–3,5 часа до предполагаемого времени окончания удаления опухоли. Проводили оценку ближайших результатов комплексного лечения, дополненного ИФДТ у больных местно-распространенным раком слизистой полости рта.

Уровни цитокинов (G-CSF, GM-CSF, IFN- γ , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, MCP-1, MIP-1 β , TNF- α) определяли в слюне методом ИФА мультиплекс-анализа (Bio-Plex Pro Human Cytokine Assays 17-Plex Panel, Bio-Rad, USA). Забор нестимулированной цельной слюны для исследования проводили с 8 до 9 утра за сутки до операции, на 3-и и на 7-е сутки после ее проведения. Результаты выражали в пг/мл.

Статистический анализ результатов исследования проводили с помощью программы Statistica 12.0 (StatSoft Inc., США), MedCalc (версия 9.3.5.0). Поскольку распределение не было нормальным, для сравнения межгрупповых показателей использовали критерий Манна-Уитни, а для сравнения показателей в динамике – критерий Уилкоксона; различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Данные приведены в виде медианы с верхним и нижним квартилями (Me [LQ, UQ]).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования представлены на рис. 1А-1Г, 2А-2Г.

На 3-и сутки после операции у больных обеих групп уровни G-CSF, IL-6, MIP-1 β повышались (рис. 1А), а GM-CSF и IFN- γ снижались (рис. 1Б) по сравнению с исходными показателями; содержание остальных цитокинов было разнонаправленным в сравниваемых группах больных. Часть показателей менялась статистически значимо только в одной из групп, что, по-видимому, связано с действием ИФДТ (рис. 1В, 1Г).

На 7-е сутки характер динамики G-CSF, GM-CSF, IL-6, сохранялся, IL-8, IL-10, IL-12 менялся на противоположный, уровни остальных цитокинов менялись в основной и контрольной группах различным образом (рис. 2А-Г).

Выявлены различия между основной и контрольной группами по уровням колониестимулирующих факторов: возрастание G-CSF и снижение GM-CSF как на 3-и, так и на 7-е сутки после операции по сравнению с исходными показателями, причем в основной группе изменения G-CSF менее выражены, чем в контрольной, и в оба срока исследования находились на более низких значениях (рис. 1А, 2А). Так, в контрольной группе уровень G-CSF возрастал на 3-и сутки после операции в 22,8 раза, а в основной – в 13 раз, а на 7-е сутки он был выше исходного в 22,2 и в 4,8 раза соответственно, т.е. снижение на 7-е сутки после первоначального возрастания на 3-и происходило только после действия ФДТ.

Уровни IL-1 β на 3-и сутки повышались в основной группе с 410,1 [321,9; 522,6] до 550,8 [528,7; 590,6] пг/мл и снижались в контрольной до 102,1 [22,1; 159] пг/мл, а на 7-е – наблюдалась обратная картина (рис. 1Б, 2Б).

Отмечено 3,3-кратное по сравнению с исходным повышение IL-6 в слюне больных обеих групп на 3-и сутки, которое продолжалась и на 7-е с более высокими показателями в основной группе (1856,2 [1753,1; 1975] против 1356,9 [1261,3; 1450,7] пг/мл, $p < 0,05$), (рис. 1А, 2А).

Динамика IL-7 заключалась в повышении на 3-и сутки после операции уровня этого цитокина в слюне больных обеих групп, статистически значимым только в контрольной группе (на 53 %) и разнонаправленности на 7-е сутки – резком падении (до 0) в контрольной группе и продолжающемся

нарастании, достигшем статистической значимости (15,3 [13,6; 17,2] против 10,2 [6,8; 13,5] до лечения; $p < 0,05$) у больных, получавших ИФДТ.

В основной группе показано выраженное (4,8-кратное) транзиторное повышение содержания IL-8 на 3-и сутки и его 3,6-кратное падение на 7-е; в контрольной группе оно, напротив, снижалось на 3-и сутки и возрастало на 7-е, превышая в последний срок показатель основной группы (Ме 2883,1 [2621,8; 3338,2] и 2006,4 [1934,3; 2310,4] пг/мл соответственно, $p < 0,05$), (рис. 1А,

2Б). Уровень TNF- α возрастал только в основной группе на 7-е сутки, а в контрольной отмечено его снижение на 3-и и восстановление на 7-е сутки (рис. 1Г, 2Г). На 3-и сутки отмечена разнонаправленная динамика уровней MCP-1: возрастание в основной группе и снижение в контрольной (рис. 1Г), а на 7-е в обеих группах показатели становятся в 3,5 и 4,6 раз соответственно ниже исходного (рис. 2Г). Содержание MIP-1 β имеет сходную динамику в обеих группах, повышаясь на 3-и и возвращаясь к исходным на 7-е сутки после операции (рис. 1А, 2Г).

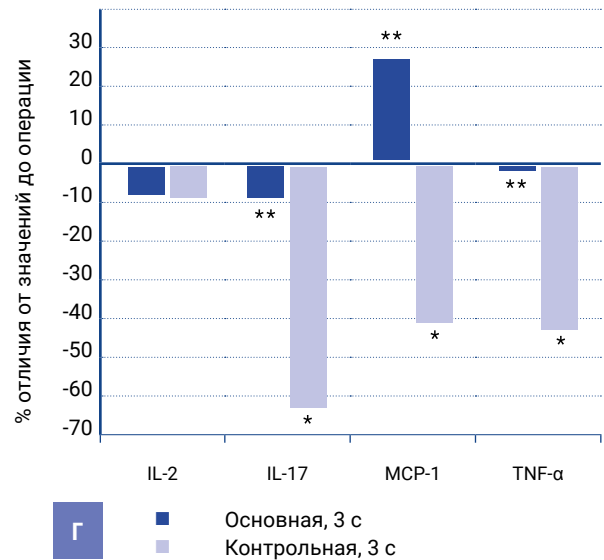
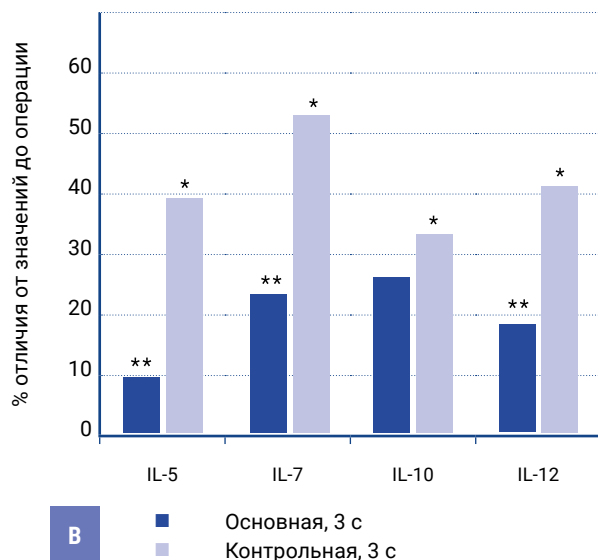
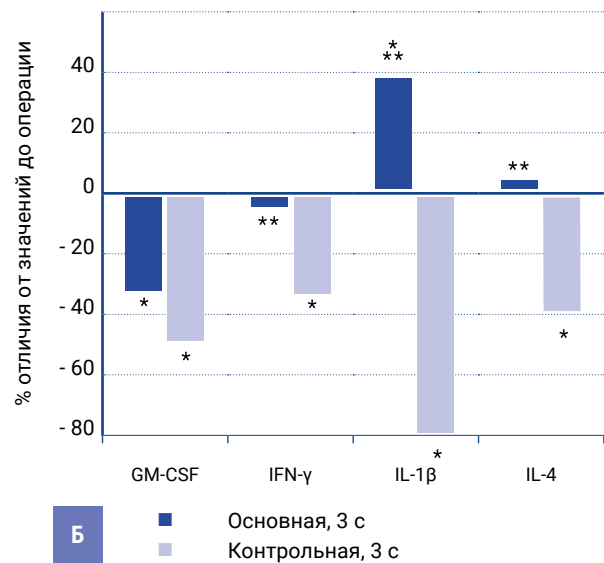
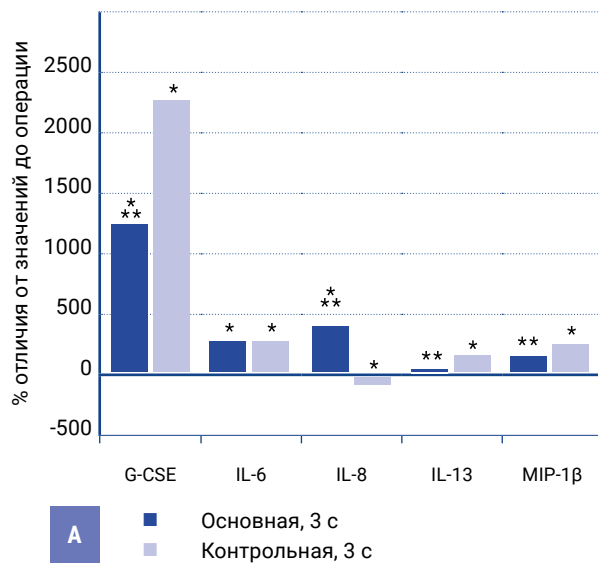


Рис. 1. Концентрация цитокинов в слюне больных на 3 сутки после операции.

Примечание: * – статистически значимые отличия по сравнению с уровнем до операции, $p < 0,05$; ** – статистически значимые отличия по сравнению с уровнем контрольной группы, $p < 0,05$

Наблюдалось снижение IFN- γ и IL-4, в основной группе выраженное только на 7-е сутки с показателями в этот срок ниже контрольных (рис. 2Б). Медиана уровня IFN- γ в основной группе на 7-е сутки составляла 4,7 [4,2; 5,2] пг/мл, а в контрольной 6,8 [6,3; 7,4] пг/мл против 10,6 [8,4; 12,4] пг/мл до лечения; для IL-4 показатели были 4,1 [3,2; 4,7] и 8,6 [7,2; 8,9] против 10,9 [8,7; 14,2] пг/мл соответственно; для обоих цитокинов различия между показателями основной и контрольной групп статистически значимы ($p < 0,05$). Динамика уровней

IL-2 в виде повышения выявлена только в контрольной группе на 7-е сутки (Ме 29,6 [26,9; 30,7] против 21,4 [17,4; 25,5] пг/мл до лечения, $p < 0,05$), (рис. 2В).

Снижение уровня IL-12 происходит в обеих группах на 7-е сутки (рис. 2В), причем оно менее выражено в основной, чем в контрольной группе (Ме 11,7 [10,6; 12,8] и 7,9 [7,2; 9,3] соответственно против 14,7 [13,5; 16,7] пг/мл до лечения; $p < 0,05$) только для контрольной группы), что можно расценить положительно, учитывая роль этого цитокина

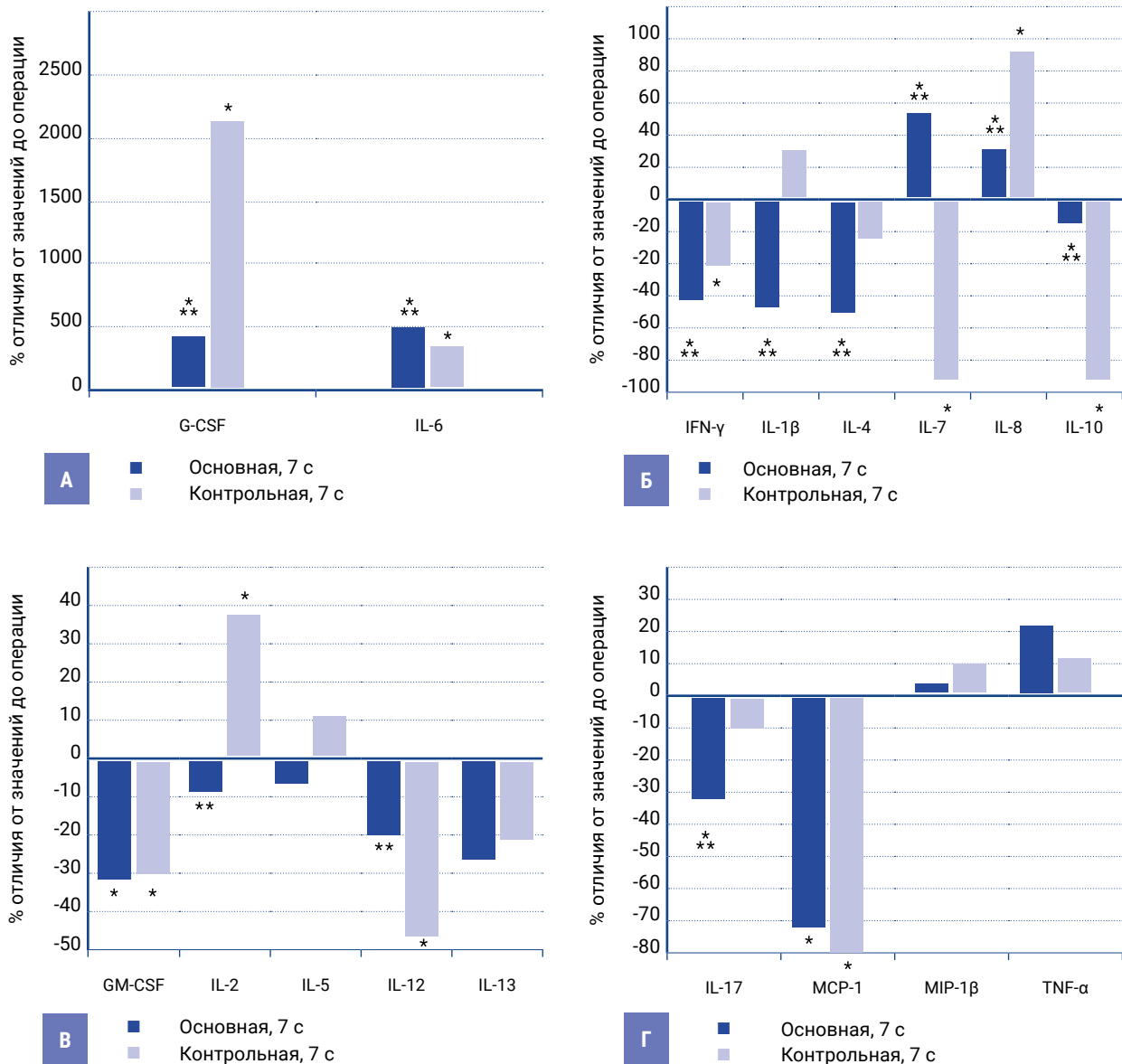


Рис. 2. Концентрация цитокинов в слюне больных на 7 сутки после операции.

Примечание: * – статистически значимые отличия по сравнению с уровнем до операции, $p < 0,05$; ** – статистически значимые отличия по сравнению с уровнем контрольной группы, $p < 0,05$

в поляризации Т-хелперов в Th1, обеспечивающих клеточный иммунитет.

Уровни IL-17 демонстрируют различную фазность изменений: в основной группе транзиторное нарастание на 3-и сутки с дальнейшим снижением ниже исходного, а в контрольной группе – снижение на 3-и сутки с последующим восстановлением на 7-е (рис. 1Г, 2Г). Нарастание уровней цитокинов, поляризующих CD4+ в Th2, IL-5 и IL-13 на 3-и сутки, отмеченные только в контрольной группе, также является транзиторным. Однако уровень IL-5 в оба срока исследования в основной группе был ниже, чем в контрольной (рис. 1В, 2В): на 3-и сутки 136,3 [130,2; 144,4] против 173,6 [168,7; 176,8] пг/мл, на 7-е сутки 117,4 [106,6; 125,2] против 138,5 [131,7; 147,2] пг/мл соответственно, в оба срока $p < 0,05$), что, с учетом описанных в литературе данных о его связи с рецидивированием некоторых опухолей [16], возможно, является одним из положительных моментов действия ИФДТ.

Известно значение хронического воспаления и сопровождающей его продукции цитокинов при опухолевом росте. Многократно описана проонкогенная роль большинства известных цитокинов при неоплазиях, реализующаяся через активацию различных транскрипционных факторов и сигнальных путей, стимуляцию пролиферации, неоангиогенеза, эпителиально-мезенхимального перехода, и других процессов [4]. Однако представляется сложным разграничение значимости цитокинов для злокачественного роста и для иммунного ответа, неотъемлемым компонентом которого они являются, вследствие чего и осуществляется их противоопухолевая активность. Вероятно, многое зависит от их количества, соотношения, экспрессии рецепторов к ним и пр. В отличие от хронического, острое воспаление, тем более, не микробное, а индуцированное физическим фактором, таким как ФДТ, по-видимому, проявляет ингибирующее действие на рост опухоли как прямое путем разрушения ее клеток, так и опосредованное через иммунную систему [15]. В связи с этим, ФДТ-индуцированная гиперпродукция цитокинов в очаге, тем более, после удаления опухоли, не только способствует его санации, ускоряя очищение и заживление раны, но и может иметь положительные отдаленные последствия, связанные с увеличением безрецидивного периода вследствие разрушения резидуальных опухолевых клеток и индукции иммунного ответа на DAMPs. Полученные нами ре-

зультаты отчасти подтверждают это. Окислительный стресс, вызванный ФДТ, стимулирует выброс провоспалительных цитокинов в микроокружение опухоли, что отражается и на их содержании в слюне. В начале ФДТ-индуцированного воспаления сосуды опухоли становятся проницаемыми для белков адгезии (ICAM 1, VCAM 1, селектинов), таким образом способствуя массивной инфильтрации опухоли иммунными клетками-продуцентами широкого спектра цитокинов, из которых в литературе подчеркивается значение TNF- α , IL-6, IL-1 β , а также белков теплового шока, метаболитов арахидоновой кислоты [17]. В связи с этим цитокины, обладающие провоспалительным действием, в частности, способностью повышать проницаемость сосудов, и обычно считающиеся проонкогенными вследствие своего стимулирующего влияния на неоангиогенез, при ФДТ имеют положительное значение для реализации ее эффекта. Полученная нами сравнительная динамика цитокинов слюны больных основной и контрольной группы позволяет говорить о более ранних пиках концентраций IL-1 β и IL-8, наступающих на 3-и сутки после интраоперационной ФДТ и высоких локальных уровнях TNF- α и IL-6, сохраняющихся на протяжении срока наблюдения. Напротив, противовоспалительные цитокины, например, IL-10 и TGF- β подавляют эффекты ФДТ [18]. О значимости IL-7 при воспалении известно, что его локальное содержание повышается за счет продукции макрофагами, дендритными клетками, фибробластами, а его мишенью являются Т-лимфоциты, экспрессирующие рецептор к нему. IL-7 стимулирует преимущественно Th1 и Th17 лимфоциты, опосредующие клеточный иммунитет [19]. В недавнем обзоре, посвященном роли IL-7 при опухолях, указано, что он ингибирует рост меланомы, усиливает действие IFN- γ , восстанавливает активность CD8+ Т-лимфоцитов путем снижения экспрессии ими PD-1 [20]. Исходя из этого, можно предположить, что наблюдаемое нами снижение уровня данного цитокина после транзиторного возрастания в слюне больных контрольной группы является прогностически неблагоприятным для состояния локального клеточного иммунитета, и, напротив, его стабильное повышение в слюне больных, получавших ИФДТ, отражает стимуляцию Т-клеточного звена.

Роль гранулоцитов и связанных с ними цитокинов в организме опухоленосителя является двойственной. Известны многочисленные данные

литературы о проонкогенном действии нейтрофилов [21], а также хемокинов, привлекающих их в очаг. Нейтрофильные «ловушки» способствуют выживанию циркулирующих опухолевых клеток в крови и метастазированию опухоли [22, 23]. Тем не менее, нейтрофилам как участникам генерации АФК придается важное значение в действии ФДТ [24]. Однако, поскольку G-CSF способствует выходу из костного мозга в периферическую кровь и ткани незрелых гранулоцитов, обладающих иммуносупрессивным действием (MDSC), более низкий уровень его у наших больных, получавших ИФДТ, по сравнению с контрольной группой мы рассматриваем как положительный момент.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Интраоперационное применение ФДТ у больных местно-распространенным раком полости рта вызывает изменения цитокинового состава слюны, развивающиеся в течение первой недели после операции, часть из которых можно связать с полученным клиническим эффектом, состоящим в удлинении безрецидивного периода у таких пациентов (Патент РФ № 2797433). Однако для выяснения роли цитокинов в противоопухолевой эффективности примененного фотодинамического воздействия у больных местнораспространенным раком полости рта требуются дальнейшие исследования.

Список источников

1. Златник Е. Ю., Сагакянц А. Б., Шульгина О. Г., Шевченко А. Н., Филатова Е. В., Белякова Л. И. и др. Уровни местных цитокинов как прогностический фактор раннего рецидива немышечно-инвазивной карциномы мочевого пузыря. *Медицинская иммунология*. 2023;25(5):1135–1140. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-LCL-2723>, EDN: JEPHWY
2. Рыбкина В. Л., Адамова Г. В., Ослина Д. С. Роль цитокинов в патогенезе злокачественных новообразований. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(2):15–28. <https://doi.org/10.18699/SSMJ20230202>, EDN: MRRKJB
3. Kartikasari AER, Huertas CS, Mitchell A, Plebanski M. Tumor-Induced Inflammatory Cytokines and the Emerging Diagnostic Devices for Cancer Detection and Prognosis. *Front Oncol*. 2021;11:692142. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.692142>
4. Lan T, Chen L, Wei X. Inflammatory Cytokines in Cancer: Comprehensive Understanding and Clinical Progress in Gene Therapy. *Cells*. 2021 Jan 8;10(1):100. <https://doi.org/10.3390/cells10010100>
5. Агаев Т., Титерина Е. К., Хорева М. В., Ганковская Л. В. Роль цитокинов при гепатоцеллюлярной карциноме. *Медицинская иммунология*. 2022;24(5):889–902. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-ROC-2512>, EDN: FXTNRU
6. Ralli M, Grasso M, Gilardi A, Ceccanti M, Messina MP, Tirassa P, et al. The role of cytokines in head and neck squamous cell carcinoma: A review. *Clin Ter*. 2020;171(3):e268–e274. <https://doi.org/10.7417/CT.2020.2225>
7. Caruntu A, Scheau C, Codrici E, Popescu ID, Calenic B, Caruntu C, et al. The Assessment of Serum Cytokines in Oral Squamous Cell Carcinoma Patients: An Observational Prospective Controlled Study. *J Clin Med*. 2022 Sep 14;11(18):5398. <https://doi.org/10.3390/jcm11185398>
8. Chadwick JW, Macdonald R, Ali AA, Glogauer M, Magalhaes MA. TNF α Signaling Is Increased in Progressing Oral Potentially Malignant Disorders and Regulates Malignant Transformation in an Oral Carcinogenesis Model. *Front Oncol*. 2021;11:741013. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.741013>
9. Dikova V, Jantus-Lewintre E, Bagan J. Potential Non-Invasive Biomarkers for Early Diagnosis of Oral Squamous Cell Carcinoma. *J Clin Med*. 2021 Apr 13;10(8):1658. <https://doi.org/10.3390/jcm10081658>
10. Val M, Sidoti Pinto GA, Manini L, Gandolfo S, Pentenero M. Variations of salivary concentration of cytokines and chemokines in presence of oral squamous cell carcinoma. A case-crossover longitudinal prospective study. *Cytokine*. 2019 Aug;120:62–65. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2019.04.009>
11. Златник Е. Ю., Светицкий П. В., Новикова И. А., Нистратов Г. П., Аединова И. В., Волкова В. Л. и др. Факторы локального иммунитета у больных раком слизистой оболочки полости рта и языка с отсутствием и наличием регионарных метастазов и рецидивов. *Фундаментальные исследования*. 2015;1-5:953–957. EDN: TWTPFJ
12. Falk-Mahapatra R, Gollnick SO. Photodynamic Therapy and Immunity: An Update. *Photochem Photobiol*. 2020 May;96(3):550–559. <https://doi.org/10.1111/php.13253>
13. Donohoe C, Senge MO, Arnaut LG, Gomes-da-Silva LC. Cell death in photodynamic therapy: From oxidative stress to anti-tumor immunity. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2019 Dec;1872(2):188308. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2019.07.003>
14. Huis In 't Veld RV, Heuts J, Ma S, Cruz LJ, Ossendorp FA, Jager MJ. Current Challenges and Opportunities of Photodynamic Therapy against Cancer. *Pharmaceutics*. 2023 Jan 18;15(2):330. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020330>

15. Патент РФ № 2797433 Российская Федерация, МПК А61В 18/20 (2006.1), А61N5/067 (2006.01), А61К 6/00 (2006.01), А61Р 35/00 (2006.01) Способ интраоперационной фотодинамической терапии в комбинированном лечении первичного местнораспространенного рака языка: N 2022118036: заявл. 01.07.2022: опубликовано 05.06.2023. Кит О. И., Комарова Е. Ю., Енгибарян М. А., Волкова В. Л., Чертова Н. А., Комарова Е. Ф. и др; заявитель ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 10 с.
16. Kumar P, Ranmale S, Mehta S, Tongaonkar H, Patel V, Singh AK, et al. Immune profile of primary and recurrent epithelial ovarian cancer cases indicates immune suppression, a major cause of progression and relapse of ovarian cancer. *J Ovarian Res.* 2023 Jun 15;16(1):114. <https://doi.org/10.1186/s13048-023-01192-4>
17. Maeding N, Verwanger T, Krammer B. Boosting Tumor-Specific Immunity Using PDT. *Cancers (Basel).* 2016 Oct 6;8(10):91. <https://doi.org/10.3390/cancers8100091>
18. Reginato E, Wolf P, Hamblin MR. Immune response after photodynamic therapy increases anti-cancer and anti-bacterial effects. *World J Immunol.* 2014 Mar 27;4(1):1–11. <https://doi.org/10.5411/wji.v4.i1.1>
19. Bikker A, Hack CE, Lafeber FPJG, van Roon JAG. Interleukin-7: a key mediator in T cell-driven autoimmunity, inflammation, and tissue destruction. *Curr Pharm Des.* 2012;18(16):2347–2356. <https://doi.org/10.2174/138161212800165979>
20. Wang C, Kong L, Kim S, Lee S, Oh S, Jo S, et al. The Role of IL-7 and IL-7R in Cancer Pathophysiology and Immunotherapy. *Int J Mol Sci.* 2022 Sep 8;23(18):10412. <https://doi.org/10.3390/ijms231810412>
21. Szczerba BM, Castro-Giner F, Vetter M, Krol I, Gkoutela S, Landin J, et al. Neutrophils escort circulating tumour cells to enable cell cycle progression. *Nature.* 2019 Feb;566(7745):553–557. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-0915-y>
22. Vorobjeva NV, Chernyak BV. NETosis: Molecular Mechanisms, Role in Physiology and Pathology. *Biochemistry (Mosc).* 2020 Oct;85(10):1178–1190. <https://doi.org/10.1134/S0006297920100065>
23. Azzouz D, Khan MA, Palaniyar N. ROS induces NETosis by oxidizing DNA and initiating DNA repair. *Cell Death Discov.* 2021 May 18;7(1):113. <https://doi.org/10.1038/s41420-021-00491-3>
24. Brackett CM, Muhitch JB, Evans SS, Gollnick SO. IL-17 promotes neutrophil entry into tumor-draining lymph nodes following induction of sterile inflammation. *J Immunol.* 2013 Oct 15;191(8):4348–4357. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1103621>

Информация об авторах:

Комарова Елизавета Юрьевна ✉ – аспирант, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1252-8094>, SPIN: 9372-1954, AuthorID: 1198314, Scopus Author ID: 57217081452

Златник Елена Юрьевна – д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1410-122X>, SPIN: 4137-7410, AuthorID: 327457, ResearcherID: AAI-1311-2020, Scopus Author ID: 6603160432

Комарова Екатерина Федоровна – д.б.н., профессор РАН, ведущий научный сотрудник, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация; декан факультета клинической психологии, заведующий кафедрой биомедицины (и психофизиологии), ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7553-6550>, SPIN: 1094-3139, AuthorID: 348709, ResearcherID: T-4520-2019, Scopus Author ID: 55890096600

Новикова Инна Арнольдовна – д.м.н., заместитель генерального директора по науке, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6496-9641>, SPIN: 4810-2424, AuthorID: 726229, ResearcherID: E-7710-2018, Scopus Author ID: 7005153343

Дженкова Елена Алексеевна – д.б.н., профессор, ученый секретарь, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3561-098X>, SPIN: 6206-6222, AuthorID: 697354, ResearcherID: K-9622-2014, Scopus Author ID: 6507889745

Енгибарян Марина Александровна – д.м.н., заведующая отделением опухолей головы и шеи, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7293-2358>, SPIN: 1764-0276, AuthorID: 318503, Scopus Author ID: 57046075800

Сагалянц Александр Борисович – к.б.н., доцент, заведующий лабораторией иммунофенотипирования опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0874-5261>, SPIN: 7272-1408, AuthorID: 426904, ResearcherID: M-8378-2019, Scopus Author ID: 24329773900

Позднякова Виктория Вадимовна – д.м.н., профессор, врач-онколог отделения реконструктивно-пластической хирургии и онкологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3782-6899>, SPIN: 7306-2034, AuthorID: 700139, ResearcherID: ATT-67-07-2020, Scopus Author ID: 54380529400

Розенко Людмила Яковлевна – д.м.н., профессор, врач-радиотерапевт отделения радиотерапии № 2, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7032-8595>, SPIN: 8879-2251, AuthorID: 421802, Scopus Author ID: 5397560100

Вклад авторов:

Комарова Е. Ю. – написание исходного текста;

Златник Е. Ю. – развитие методологии, итоговые выводы;

Комарова Е. Ф. – концепция исследования;

Новикова И. А. – научное руководство, итоговые выводы;

Дженкова Е. А. – участие в разработке дизайна исследования; научное руководство;

Енгибарян М. А. – научное руководство;

Сагакянц А. Б. – развитие методологии, доработка текста;

Позднякова В. В. – написание исходного текста;

Розенко Л. Я. – доработка текста, итоговые выводы.

Статус и молекулярно-генетические параметры папилломавирусной инфекции: индивидуальные особенности и ассоциативные связи с клинико-морфологическими факторами рака шейки матки

Л. С. Мкртчян¹✉, В. И. Киселева¹, Л. И. Крикунова¹, Б. В. Бойко¹, В. Р. Гусарова¹, Г. П. Безяева¹, Л. В. Панарина¹, С. А. Иванов^{1,3}, А. Д. Каприн^{2,3,4}, И. А. Замулаева^{1,5}

¹Медицинский радиологический научный центр им. А. Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Обнинск, Российская Федерация

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Обнинск, Российская Федерация

³ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Российская Федерация

⁴Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация

⁵Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна, Российская Федерация

✉ liana.mko@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучение особенностей папилломавирусной (ВПЧ) инфекции, сопоставление ВПЧ-статуса, молекулярно-генетических параметров ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВКР) с клинико-морфологическими характеристиками рака шейки матки (РШМ).

Материалы и методы. В исследование были включены 240 больных с морфологически верифицированным РШМ I–III стадий, у которых до начала лечения исследовали наличие ДНК ВПЧ 14 генотипов, при выявлении – вирусную нагрузку (ВН), наличие и степень интеграции ДНК в геном клетки-хозяина.

Результаты. Выявлен ряд статистически значимых ассоциативных связей между молекулярно-генетическими параметрами ВПЧ-инфекции и клинико-морфологическими показателями опухолевого процесса, в частности связь ВПЧ-негативного РШМ с возрастом и стадией заболевания; ВПЧ-инфицирования несколькими генотипами и генотипа ВПЧ – с гистологическим типом опухоли; ВН – с возрастом, стадией и гистологическим типом опухоли. Установлены значимые ассоциативные связи между молекулярно-генетическими параметрами самого вируса: генотипа и уровня ВН, генотипа и интеграции ДНК ВПЧ в хозяйский геном, а также отрицательная линейная корреляция между ВН и степенью интеграции.

Заключение. Полученные данные о взаимосвязи молекулярно-генетических параметров ВПЧ-инфекции с традиционными прогностическими факторами могут стать основой для дальнейших исследований по разработке прогностических моделей с целью персонализации мультимодальных лечебных программ.

Ключевые слова: вирус папилломы человека (ВПЧ), высокий канцерогенный риск (ВКР), рак шейки матки (РШМ), генотип ВПЧ, множественная инфекция, вирусная нагрузка, ВПЧ – статус, интеграция ДНК вируса в клеточный геном

Для цитирования: Мкртчян Л. С., Киселева В. И., Крикунова Л. И., Бойко Б. В., Гусарова В. Р., Безяева Г. П., Панарина Л. В., Иванов С. А., Каприн А. Д., Замулаева И. А. Статус и молекулярно-генетические параметры папилломавирусной инфекции: индивидуальные особенности и ассоциативные связи с клинико-морфологическими факторами рака шейки матки. Южно-Российский онкологический журнал. 2024; 5(2):53-65. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-2-6>, <https://elibrary.ru/qmhkdo>

Для корреспонденции: Мкртчян Лиана Сирекановна – д. м. н., ведущий научный сотрудник МРНЦ им. А. Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Обнинск, Российская Федерация
Адрес: 249031, Российская Федерация, г. Обнинск, ул. Маршала Жукова, д. 10
E-mail: liana6969@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5027-5331>
SPIN: 3352-0814, AuthorID: 147713
ResearcherID: JBJ-0493-2023
Scopus Author ID: 6601999343

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 МРНЦ им. А. Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ Радиологии» Минздрава России (выписка из протокола заседания № 103 от 17.09.2015 г.). Все пациенты подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось

Конфликт интересов: Иванов С. А., Каприн А. Д. являются членами редакционной коллегии журнала «Южно-Российский онкологический журнал» с 2024 г., но не имеет никакого отношения к решению опубликовать эту статью. Статья прошла принятую в журнале процедуру рецензирования. Об иных конфликтах интересов авторы не заявляли

Статья поступила в редакцию 11.03.2024; одобрена после рецензирования 23.04.2024; принята к публикации 09.05.2024

© Мкртчян Л. С., Киселева В. И., Крикунова Л. И., Бойко Б. В., Гусарова В. Р., Безяева Г. П., Панарина Л. В., Иванов С. А., Каприн А. Д., Замулаева И. А., 2024

Status and molecular genetic parameters of papillomavirus infection: individual characteristics and associative links with clinical and morphological factors of cervical cancer

L. S. Mkrtychyan¹✉, V. I. Kiseleva¹, L. I. Krikunova¹, B. V. Boyko¹, V. R. Gusarova¹, G. P. Bezyaeva¹, L. V. Panarina¹, S. A. Ivanov^{1,3}, A. D. Kaprin^{2,3,4}, I. A. Zamulaeva^{1,5}

¹ A. F. Tsyb Medical Radiological Research Centre – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russian Federation

² National Medical Research Radiological Centre, Obninsk, Russian Federation

³ Peoples Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, Russian Federation

⁴ P. A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

⁵ Joint Institute for Nuclear Research, Dubna, Russian Federation

✉ liana.mko@gmail.com

ABSTRACT

Purpose of the study. Study of the characteristics of human papillomavirus (HPV) infection, comparison of HPV status, molecular and genetic parameters of HPV high risk (HR) with the clinical and morphological characteristics of cervical cancer.

Materials and methods. The study included 240 patients with morphologically verified cervical cancer stages I–III, in whom the presence of HPV DNA of 14 genotypes was examined before treatment; upon detection, viral load (VL), the presence and degree of DNA integration into the genome of the host cell were examined.

Results. A number of statistically significant associative relationships have been identified between the molecular and genetic parameters of HPV infection and clinical and morphological indicators of the tumor process, in particular the relationship of HPV-negative CC with age and stage of the disease; HPV infection with several genotypes and HPV genotype – with the histological type of tumor; VL – with age, stage and histological type of tumor. Significant associative connections have been established between the molecular genetic parameters of the virus itself: genotype and level of VL, genotype and integration of HPV DNA into the host genome, as well as a negative linear correlation between VL and the degree of integration.

Conclusion. The obtained data on the relationship between the molecular and genetic parameters of HPV infection and traditional prognostic factors can become the basis for further research on the development of prognostic models for the purpose of personalizing multimodal treatment programs.

Keywords: human papillomavirus (HPV), high carcinogenic risk (HCR), cervical cancer (CC), HPV genotype, multiple infection, viral load, HPV status, virus DNA integration into the cell genome

For citation: Mkrtychyan L. S., Kiseleva V. I., Krikunova L. I., Boyko B. V., Gusarova V. R., Bezyaeva G. P., Panarina L. V., Ivanov S. A., Kaprin A. D., Zamulaeva I. A. Status and molecular genetic parameters of papillomavirus infection: individual characteristics and associative links with clinical and morphological factors of cervical cancer. South Russian Journal of Cancer. 2024; 5(2):53-65. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-2-6>, <https://elibrary.ru/qmhkdo>

For correspondence: Liana S. Mkrtychyan – Dr. Sci. (Med.), leading researcher, A. F. Tsyb Medical Radiological Research Centre – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russian Federation

Address: 10 Marshal Zhukov str., Obninsk 249031, Russian Federation

E-mail: liana6969@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5027-5331>

SPIN: 3352-0814, AuthorID: 147713

ResearcherID: JBJ-0493-2023

Scopus Author ID: 6601999343

Compliance with ethical standards: the work followed the ethical principles set forth in the World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ed. 2013. The study was approved by the local Ethics committee of the A. F. Tsyb Medical Radiological Research Centre – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russian Federation (extract from the protocol of the meeting No. 103 dated 09/17/2015). All patients signed an informed consent to participate in the study

Funding: this work was not funded

Conflict of interest: Ivanov S. A., Kaprin A. D. has been the member of the editorial board of the South Russian Journal of Cancer since 2024, however he has no relation to the decision made upon publishing this article. The article has passed the review procedure accepted in the journal. The authors did not declare any other conflicts of interest

The article was submitted 11.03.2024; approved after reviewing 23.04.2024; accepted for publication 09.05.2024

ВВЕДЕНИЕ

Рак шейки матки (РШМ) занимает первое место среди злокачественных новообразований женских половых органов [1]. Ежегодно в мире выявляется более 600 тыс. новых случаев и регистрируется около 342 тыс. смертей от данной патологии [2]. В Российской Федерации РШМ лидирует среди причин смертности от онкологических заболеваний женской части населения в возрасте 30–39 лет (21,5 %) [3].

Вирус папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенного риска (ВКР) является доказанным фактором развития РШМ [4]. Среди общего числа больных РШМ ВПЧ-положительными являются 88–95 %, по данным различных авторов [5, 6]. Наиболее часто встречающимися генотипами ВПЧ, по данным большинства литературных источников, являются 16 и 18 типы, которые суммарно выявляются практически в 75–85 % случаев ВПЧ-положительного РШМ [6–9]. Всемирной организацией здравоохранения в 2020 г. была введена новая классификация эпителиальных опухолей шейки матки, основанная на наличии/отсутствии ВПЧ ВКР – т.н. ВПЧ-статусе [10, 11]. В цитируемых источниках указывается, что ВПЧ-негативный статус является показателем неблагоприятного прогноза эффективности лечения, но, как отмечалось выше, доля таких больных невелика, что диктует необходимость поиска прогностических маркеров у подавляющего большинства остальных больных РШМ с ВПЧ-положительным статусом. Известно, что ВПЧ-инфекция характеризуется значительным разнообразием на молекулярно-генетическом уровне, и, что важно, некоторые ее параметры способны влиять на чувствительность опухолевых клеток к противоопухолевым воздействиям (согласно результатам исследований на клеточных культурах в условиях *in vitro*). В связи с этим можно было предположить, что изучение особенностей ВПЧ-инфекции при цервикальном раке может предоставить дополнительную информацию для стратификации больных в прогностическом аспекте, позволит персонализировать мульти-модальные программы лечения РШМ и, в конечном итоге, повысить эффективность лечения.

В литературе достаточно широко представлены данные о взаимосвязи клинико-морфологических характеристик РШМ и молекулярно-генетических параметров ВПЧ-инфекции. Авторы сообщают о наличии ассоциации между ВПЧ-статусом и лимфо-

васкулярной инвазией [12], генотипами ВПЧ ВКР и морфологической формой опухоли, взаимосвязи ВПЧ 18 типа с наличием глубокой стромальной инвазии и поражением лимфатических узлов [13]. Одни исследователи обращают внимание на статистически значимую связь между высокой вирусной нагрузкой (ВН) и риском метастатического поражения лимфоузлов, размером опухоли [14], другие – на корреляцию низкой ВН со стадией заболевания и увеличенными лимфатическими узлами [15]. Однако гетерогенность выборок с отсутствием комплексной оценки взаимосвязи всего спектра молекулярно-генетических параметров ВПЧ-инфекции с известными в прогностическом плане клинико-морфологическими факторами обуславливает, зачастую, противоречивый характер полученных данных и делает актуальными дальнейшие исследования в однородных группах больных РШМ с включением максимального количества изучаемых критериев.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучение особенностей ВПЧ-инфицированности, сопоставление ВПЧ-статуса, молекулярно-генетических параметров ВПЧ ВКР с клинико-морфологическими характеристиками опухолевого процесса выполнено у 240 больных с морфологически верифицированным РШМ I–III стадий (FIGO), проходивших обследование и лечение в отделении лучевых и комбинированных методов лечения гинекологических заболеваний МРНЦ им. А. Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России [16]. Исследование является когортным ретроспективно-проспективным, проведено в соответствии с протоколом, одобренным локальным этическим комитетом МРНЦ им. А. Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ Радиологии» Минздрава России (протокол № 103 от 17.09.2015 г.). В работе соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ред. 2013). До включения в исследование пациентками подписано добровольное информированное согласие на участие в исследовании и определение в условиях *in-vitro* параметров ВПЧ-инфекции в биоматериале шейки матки. Критериями включения явились: морфологически верифицированный РШМ I–III стадий, отсутствие специализированного

лечения по поводу данного заболевания; критерии невключения – беременность, РШМ IV стадии, специализированное лечение по поводу данного заболевания в анамнезе; критерии исключения – отказ пациенток от дальнейшего участия в исследовании. Средний возраст больных составил $47,2 \pm 12,0$ лет. Превалировали местнораспространенные формы РШМ (II и III стадии заболевания) – суммарно у 186 (77,5 %) пациенток. По морфологической структуре опухоли у больных наиболее часто был верифицирован плоскоклеточный рак различной степени дифференцировки – у 216 (90 %). По форме роста преобладали эндофитная и смешанная – соответственно у 59 (24,6 %) и 136 (56,6 %) пациенток; по варианту распространения опухолевого процесса – параметральный в различных вариациях и метастатический – соответственно у 174 (93,5 %) и 66 (66,7 %) больных.

У всех 240 больных до лечения исследовали наличие ДНК ВПЧ ВКР 14 генотипов: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 и 68. Материалом для исследования служили биоптаты и/или совместные соскобы эпителия цервикального канала (эндоцервикс) и наружной поверхности шейки матки (экзоцервикс), взятые до начала лечения. Все этапы последующего анализа полученных образцов биоматериала выполняли на отечественных тест-системах производства ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора. Выделение ДНК проводили сорбентным методом с использованием комплекта реагентов «ДНК-сорб-АМ». Наличие, дифференцированное определение генотипа и количественной нагрузки ВПЧ проводили методом мультиплекс-ПЦР с детекцией флуоресцентного сигнала по четырем каналам в режиме реального времени на амплификаторе «Rotor Gene» («Corbett Research», Австралия) с использованием реагентов «АмплиСенс ВПЧ ВКР генотип-титр FL». В этой тест-системе амплифицируются вирусные гены E1, E6, E7 и клеточный ген β -глобина. Валидными считаются только данные для образцов с положительным результатом анализа β -глобина. Этот ген служит внутренним контролем реакции (ВКО), а также позволяет оценивать количество клеток в образце (1 клетка содержит 2 молекулы β -глобина) и нормировать результаты амплификации вирусных генов на одинаковое количество клеток. Результаты исследования обрабатывали в программной надстройке Excel, прилагаемой к тест-системе, и интерпретировали в соответствии со следующими критериями: а) логарифм (lg) ко-

личества копий ДНК ВПЧ на 10^5 клеток менее 3 ($BH < 3$) – низкая вирусная нагрузка; б) lg количества копий ДНК ВПЧ на 10^5 клеток равно или более 3, но менее 5 ($3 \leq BH < 5$) – умеренная вирусная нагрузка; в) lg количества копий ДНК ВПЧ на 10^5 клеток более или равно 5 ($BH \geq 5$) – высокая вирусная нагрузка. При множественной инфекции определялась количественная нагрузка всех установленных генотипов ВПЧ ВКР, наиболее высокие показатели соответствовали ведущему генотипу вируса.

Наличие интеграции ДНК ВПЧ оценивали по соотношению количества геномных эквивалентов E7/E2 вируса с учетом стандартного отклонения и коэффициента вариации данных в соответствии с разработанным алгоритмом [17]. Принцип его основан на том, что ген E7 в процессе интеграции вирусной ДНК в ДНК клетки-хозяина сохраняется интактным, соответственно количество его в обеих формах вируса – эписомальной и интегрированной одинаковое. Ген E2 в процессе интеграции в большинстве случаев разрушается и количество его снижается. Анализ проводили методом TagMan-технологии в формате мультиплекс-ПЦР в режиме реального времени с использованием набора реагентов, позволяющего дифференцированно определять количество E2 и E7 вирусных генов и клеточного гена β -глобина. В одной пробирке амплифицировали участки генов E7 и E2 вирусов и участка ДНК β -глобина человека – ВКО. Одновременно в каждом опыте амплифицировали стандартные образцы с известной концентрацией ДНК ВПЧ 16 и 18 и ДНК β -глобина. Все образцы: и клинические, и стандартные, амплифицировали в трех повторах. Для каждого из повторов рассчитывали количество E7 и E2 по калибровочным кривым и уравнению регрессии, полученным на стандартных образцах в соответствии с программой амплификации этих генов. Степень интеграции ДНК ВПЧ оценивали по формуле $(1 - E2/E7) \times 100 \%$. Отсутствие сигнала амплификации для гена E2 при наличии такого сигнала для гена E7 соответствует 100 %-ной интеграции вирусной ДНК в геном клетки.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistica 10.0 (StatSoft, Inc.). Для описательной статистики использовали средние значения и стандартную ошибку (SE). Сравнение групп по качественным признакам проводили с помощью критерия Фишера, по количественным признакам – с помощью U-кри-

терия Манна-Уитни. Для оценки линейных связей между переменными использовали метод непараметрической корреляции Спирмена с расчетом коэффициента ранговой корреляции (r). Многофакторный анализ проводили с использованием метода агломеративной кластеризации (Agglomerative Nesting, AGNES) с построением древовидных диаграмм – дендрограмм.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

ВПЧ-статус и генотип

Наличие ВПЧ ВКР было зарегистрировано у подавляющего числа больных исследуемой когорты – у 215 (89,6 %) из 240. Средний возраст ВПЧ-инфицированных больных РШМ составил $46,7 \pm 11,8$ лет, что намного ниже показателей Европы (54 ± 14 лет) [9]. Средний возраст больных, у которых ВПЧ ВКР не был обнаружен, составил $50,6 \pm 14,0$ лет и не отличался от такового ВПЧ-инфицированных больных ($p > 0,05$). Однако, ВПЧ-негативный РШМ в 3,5 раза чаще встречался среди больных старше 55 лет ($p = 0,004$) (рис. 1), что согласуется с данными других исследований [18, 19]. Отмечено статистически значимое повышение частоты ВПЧ-негативных форм заболевания при III стадии (18,2 %) по сравнению со II (3,4 %) и I (7,4 %) стадиями ($p = 0,001$ и $p = 0,05$ соответственно), о чем упоминают и отечественные исследователи [18].

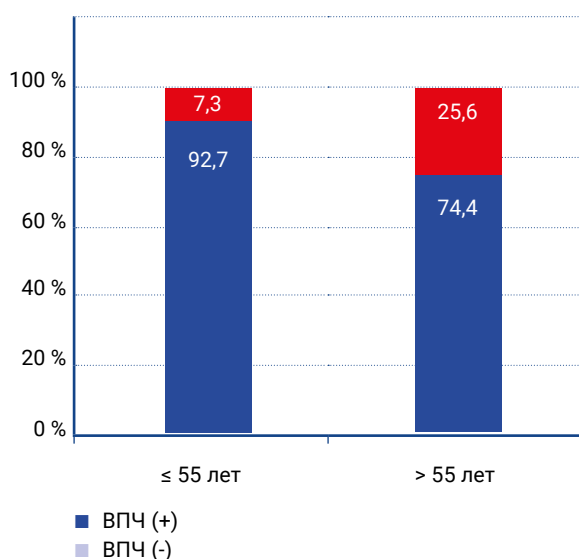


Рис. 1. Особенности ВПЧ ВКР-инфицированности больных РШМ в зависимости от возраста

Среди всех генотипов, обнаруженных у больных РШМ, преобладали 16 (62,6 %), 18 (13 %) и 45 (6,1 %) типы ВПЧ ВКР, далее следовали 31 (4,1 %), 33 (2,8 %), 39 и 56 типы (по 2,5 %) (рис. 2). Суммарная доля остальных типов ВПЧ ВКР (35, 51, 52, 58, 59, 66, 68) составила 6,4 %. Об аналогичном долевого распределении в странах Европейского региона, в частности Российской Федерации, сообщается в многочисленных публикациях, где также указывается на преобладание в 70–75 % случаев ВПЧ 16 и 18 генотипов [18–20]. В исследуемой группе 215 ВПЧ-положительных больных наиболее часто были обнаружены генотипы или их сочетания с доминирующим генотипом, относящиеся к филогенетической группе А9 (16, 31, 33, 35, 52, 58) – в 76,7 % случаях. Доля представителей группы А7 (18, 39, 45, 59) оказалась более, чем в 3,4 раза ниже – 22,3 %. Остальные 2 группы А5 (51) и А6 (56, 66) были представлены в единичных случаях (0,5 %). Пик встречаемости генотипов группы А9 приходился на молодой возраст – до 30 лет (78,6 %), А7 – на возрастную категорию до 45 лет (31,3 %), однако без статистически значимых различий, что согласуется с результатами многофакторного анализа [21], хотя в отдельных исследованиях демонстрируется наличие связи генотипа ВПЧ с возрастом больных РШМ [9].

При плоскоклеточном раке отмечено преобладание генотипов группы А9 (80,0 %) ($p = 0,0002$) с доминированием ВПЧ 16 (74,3 %) ($p = 0,0002$); при аденокарциноме – группы А7 (66,7 %) ($p = 0,0003$)

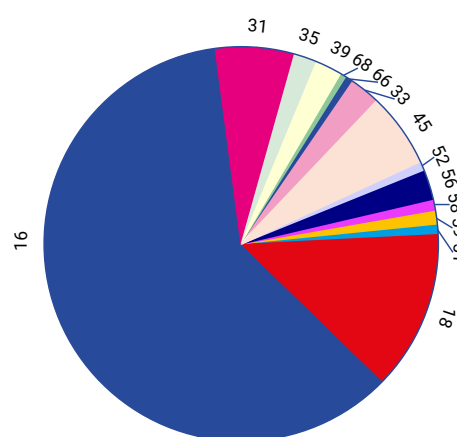


Рис. 2. Распространённость 14 генотипов ВПЧ ВКР у больных РШМ, включая случаи множественной инфекции

с преобладанием ВПЧ 18 (60,0 %) ($p < 0,0001$). Среди ВПЧ 16/18-ассоциированных плоскоклеточных РШМ значимо чаще встречался ВПЧ 16 типа (86 %), а при аденокарциноме – ВПЧ 18 (64,3 %) ($p = 0,0001$). Подобная ассоциативная связь филогенетических групп и, соответственно, генотипов с гистологическим типом опухоли выявлена и в других исследованиях [9, 22]. Распределение наиболее часто встречающихся филогенетических групп (A9 и A7) значимо не различалось в зависимости от стадии заболевания, формы роста опухоли, а у больных местнораспространенным РШМ, в том числе и от варианта распространения опухолевого процесса (наличие/отсутствие инфильтрации параметриев, метастатический вариант) ($p > 0,05$), что также подтверждают результаты других исследований [23].

Инфицирование несколькими типами ВПЧ ВКР (множественная инфекция) было обнаружено у 25 (11,6 %) из 215 ВПЧ-инфицированных пациенток (у 19 – 2 генотипа, у 6 – 3 генотипа). Статистически значимых различий в частоте встречаемости одиночной или множественной ВПЧ-инфекции в зависимости от возраста, стадии заболевания, формы роста и варианта распространения опухоли не выявлено, что подтверждается и в исследовании N. Jing и соавт. (2003) [24]. Однако необходимо отметить, что множественная инфекция встречалась только у больных с морфологически верифициро-

ванным плоскоклеточным раком ($p < 0,0001$ при сравнении с железистым морфотипом опухоли, $p = 0,038$ при сравнении с недифференцированным раком), на данную закономерность обратили внимание и другие исследователи [25].

Вирусная нагрузка

Вирусная нагрузка была определена у 199 ВПЧ-позитивных пациенток РШМ I–III стадий, из них с одиночной инфекцией – 175 (87,9 %), множественной инфекцией – 24 (12,1 %) случая. В исследуемой группе наиболее часто наблюдалась высокая ВН (средний уровень $6,4 \pm 1,3$) – в 142 (71,4 %) случаях. У 50 (25,1 %) пациенток ВН оказалась умеренной (средний уровень $4,4 \pm 0,54$), и лишь у 7 (3,5 %) – низкой (средний уровень $2,4 \pm 0,1$). При сравнении данных о ВН, полученных при обработке различного биологического материала – цервикальных соскобов и биоптатов одних и тех же больных ($n = 47$) – была выявлена достаточно высокая корреляция этих показателей между собой ($r = 0,72$, $p < 0,0000001$) (рис. 3).

Отмечено статистически значимое повышение доли случаев с низкой ВН с увеличением возраста ($r = 0,86$, $p = 0,04$), причем в возрастной группе до 30 лет случаев низкой ВН обнаружено не было (рис. 4).

При ВПЧ 16 наиболее часто встречалась высокая нагрузка вируса, а при ВПЧ 18 – умеренная

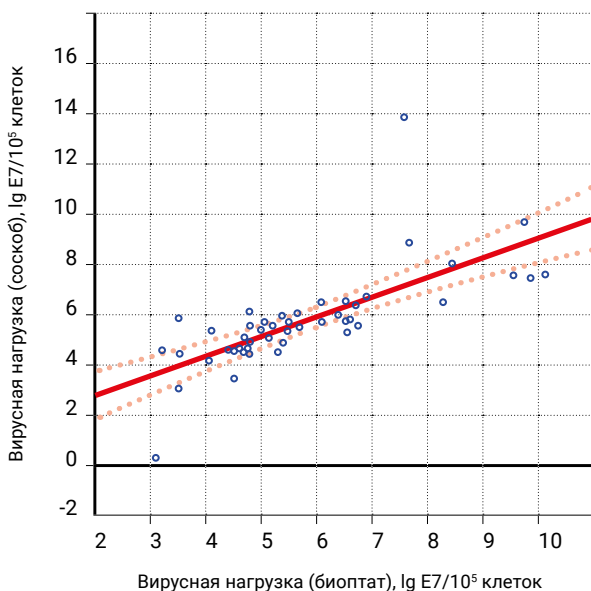


Рис. 3. Анализ корреляционной зависимости вирусной нагрузки ВПЧ ВКР в соскобах эпителия и соответствующих биоптатах шейки матки больных РШМ

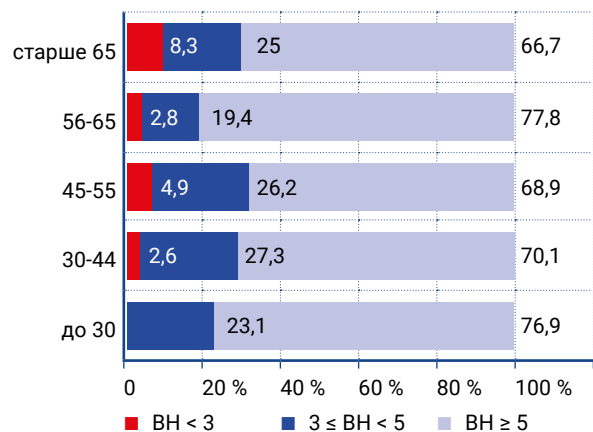


Рис. 4. Вирусная нагрузка (ВН) у больных РШМ в зависимости от возраста

и высокая нагрузки наблюдались почти с одинаковой частотой (рис. 5): средний уровень ВН при ВПЧ 16 ($6,0 \pm 1,7$) оказался статистически значимо выше аналогичного показателя при ВПЧ 18 ($5,0 \pm 1,1$) ($p < 0,001$). Данная закономерность сохранялась для филогенетических групп, к которым принадлежали указанные генотипы: $6,0 \pm 1,6$ и $4,9 \pm 1$ соответственно при генотипах группы А9 и А7 ($p < 0,001$).

При III стадии заболевания средний уровень ВН ($6,2 \pm 1,6$) оказался значимо выше, чем при I ($5,4 \pm 1,9$) и II ($5,4 \pm 2,1$), соответственно $p = 0,006$ и $p = 0,02$. Наши данные согласуются с последними результатами отечественных исследований об относительно невысокой ВН при ранних стадиях заболевания [19, 26].

При плоскоклеточном раке было выявлено больше случаев высокой ВН (73,9 %) ($p = 0,08$), а при аденокарциноме – низкой нагрузки (13,3 %) ($p = 0,07$) (рис. 6). Соответственно, средний уровень ВН был выше при плоскоклеточном раке ($5,8 \pm 1,6$) по сравнению с аденокарциномой ($5,0 \pm 1,6$) ($p = 0,10$). Взаимосвязь низкой нагрузки с цервикальной аденокарциномой и ВПЧ 18 типа отмечают также другие авторы [27].

По нашим данным при разных формах и вариантах распространения опухолевого процесса статистически значимых отличий по уровню ВН не наблюдалось.

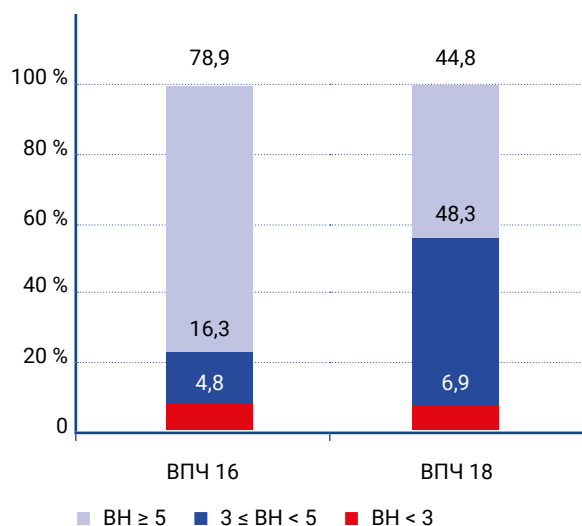


Рис. 5. Вирусная нагрузка (ВН) у ВПЧ-позитивных больных РШМ в зависимости от генотипа вируса

Интеграция ДНК ВПЧ 16/18

Наличие интеграции ДНК вируса, как полной, так и частичной, исследовано у больных, инфицированных ВПЧ 16 и 18 типами (140 и 28 случаев соответственно), которые являются наиболее агрессивными и составляют подавляющее большинство всех генотипов, обнаруженных при РШМ. Такие больные составляли 78,1 % от всех ВПЧ-позитивных случаев в нашем исследовании. В исследуемой когорте у большинства больных выявлена интеграция ДНК вируса (интегрированная форма) – у 101 из 168 человек (60,1 %), что подтверждает результаты ряда работ о высокой частоте встречаемости при инвазивном РШМ вируса в интегрированном состоянии [26, 28]. У остальных 67 (39,9 %) больных зарегистрировано отсутствие интеграции ДНК ВПЧ в клеточный геном (эписомальная форма по критерию сохранения гена E2 в интактном состоянии). Следует заметить, что невыявление интеграции ДНК ВПЧ в геном клетки-хозяина в соответствии с описанным выше алгоритмом нельзя однозначно интерпретировать как наличие только эписомальной формы вируса, поскольку такая интеграция может происходить с участием различных других вирусных генов [29–30]. Однако преимущественно этот процесс сопряжен с нарушением целостности E2-гена вируса [31], что объясняется высокой доступностью этого вирус-

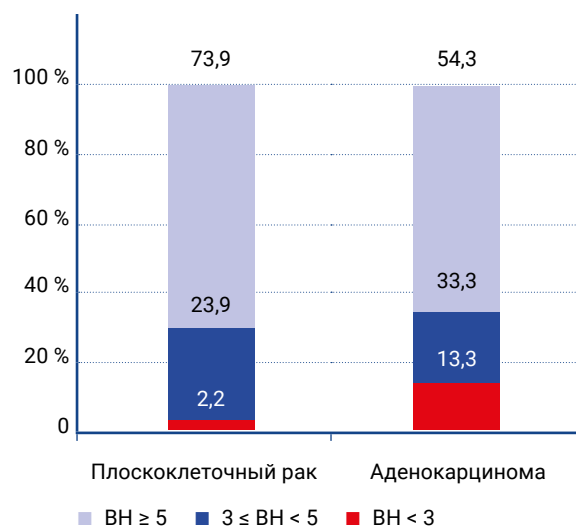


Рис. 6. Вирусная нагрузка (ВН) у ВПЧ-позитивных больных РШМ в зависимости от морфологической формы опухоли

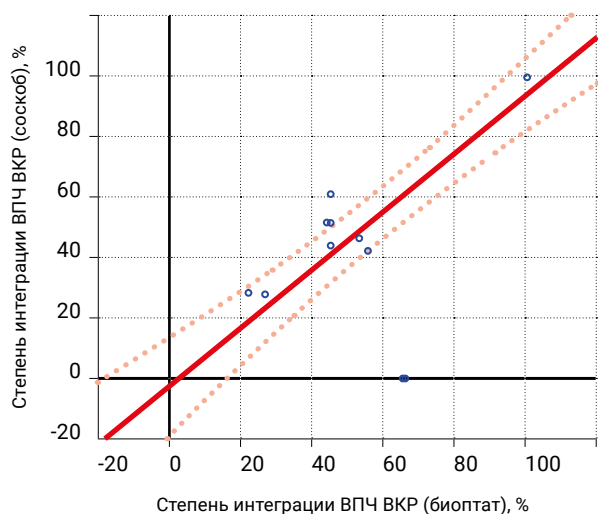


Рис. 7. Анализ корреляционной зависимости степени интеграции ДНК ВПЧ в соскобах эпителия и соответствующих биоптатах шейки матки больных РШМ. Степень интеграции изменяется от 0 % (эписомальная форма вируса) до 100 % (полная интеграция вирусной ДНК в клеточный геном). Промежуточные значения соответствуют смешанной форме ВПЧ ВКР – наличию как эписомальных, так и интегрированных форм; количественный показатель – степень интеграции – соответствует доле интегрированных форм ВПЧ ВКР

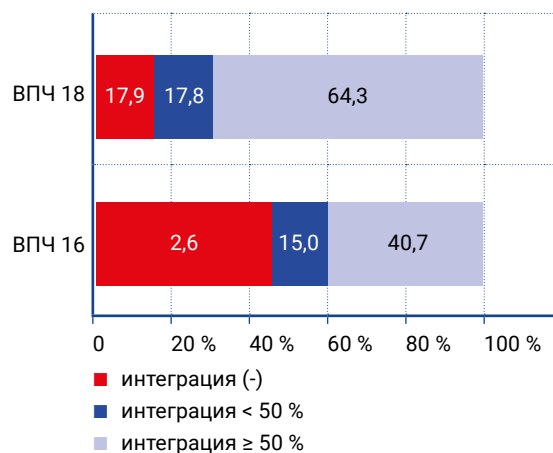


Рис. 8. Физический статус и степень интеграции ДНК ВПЧ 16 и ВПЧ 18 у больных РШМ

Таблица 1 Распределение больных РШМ в зависимости от качественных и количественных параметров ВПЧ 16/18

Вирусная нагрузка	Форма вируса	Эписомальная абс (%)	Интегрированная абс (%)	
			< 50%	≥ 50%
ВН < 3 (n = 5)		1 (20,0)	0	4 (80,0)
3 ≤ ВН < 5 (n = 39)		11 (28,2)	5 (12,8)	23 (59,0)
ВН ≥ 5 (n = 124)		55 (44,4)	21 (16,9)	48 (38,7)

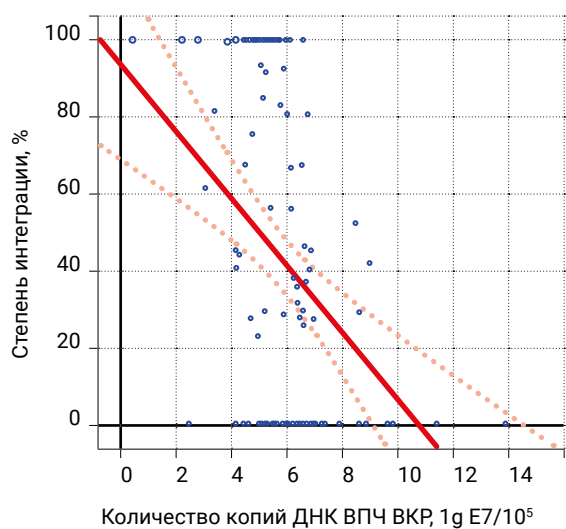


Рис. 9. Корреляционный анализ молекулярно-генетических параметров ВПЧ инфекции у больных РШМ (n = 168): 0 % – отсутствие интеграции (эписомальная форма вируса), 100 % – полная интеграция ДНК ВПЧ в геном клетки-хозяина. Промежуточные значения соответствуют смешанной форме ВПЧ ВКР – наличию как эписомальных, так и интегрированных форм; количественный показатель – степень интеграции – соответствует доле интегрированных форм ВПЧ 16,18

ного гена для различных видов генетических перестроек. Более того, нами получены данные, позволяющие предположить более высокую биологическую значимость E2-опосредованного пути интеграции вирусного генома в клеточный, в отличие от интеграции с участием других вирусных генов [32].

Сравнительный анализ данных по степени интеграции вирусной ДНК в соскобах и биоптатах шейки матки, полученных у одних и тех же больных ($n = 47$), выявил достаточно высокую корреляцию показателей между собой: коэффициент корреляции $R = 0,89$ при уровне значимости $p < 0,000001$ (рис. 7). С учетом этих данных, а также аналогичных результатов сравнительного анализа ВН можно рекомендовать использование соскоба эпителия шейки матки для молекулярно-генетического исследования параметров ВПЧ, так как информативность материала, полученного данным способом, не уступает информативности при выполнении более травматичной процедуры – биопсии шейки матки.

Интегрированная форма ВПЧ ВКР наиболее часто встречалась у больных старше 65 лет – в 66,7 % случаев, при этом в 44,4 % случаев в виде полной (100 %) интеграции. При инфицировании ВПЧ 18 по сравнению с ВПЧ 16 преобладали интегрированные формы вируса (соответственно 82,1 % и 55,7 %, $p = 0,01$) с преобладанием высоко-

интегрированных (интеграция ДНК ≥ 50 %) форм (соответственно 64,3 % и 40,7 %, $p = 0,019$), высокий процент среди которых занимала полная (100 %) интеграция ДНК ВПЧ (50,0 % против 20,7 %, $p = 0,003$) (рис. 8). О более частом обнаружении ВПЧ 18 типа в интегрированном состоянии по сравнению с ВПЧ 16 типа сообщается и в зарубежных исследованиях [33].

Анализ наличия/отсутствия и степени интеграции в зависимости от клинико-морфологических характеристик не выявил статистически значимых ассоциативных связей, что согласуется с данными литературы [34].

Ассоциативная связь вирусной нагрузки и статуса ДНК ВПЧ 16/18

Молекулярно-генетические параметры вирусной инфекции исследованы у 168 ВПЧ 16/18-положительных больных РШМ I–III стадий. По мере повышения ВН наблюдалось увеличение доли эписомальных и уменьшение доли высокоинтегрированных форм вируса (табл. 1).

Низкая вирусная нагрузка только в единичном случае (20,0 %) сопровождала эписомальную форму вируса; все остальные случаи низкой вирусной нагрузки (80,0 %) сочетались с 100 % интеграцией. Ранее нами была установлена обратная линейная корреляция ВН и степени интеграции ДНК ВПЧ в клеточный геном [35]. В дальнейшем выборка

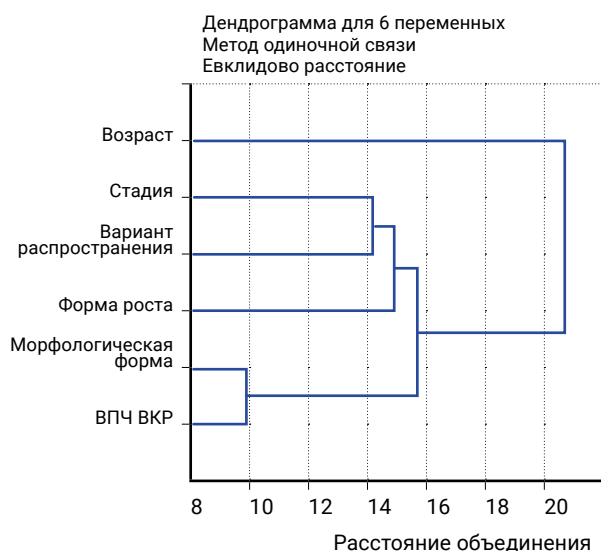


Рис. 10. Дендрограмма больных РШМ с учетом ВПЧ статуса ($n = 240$)

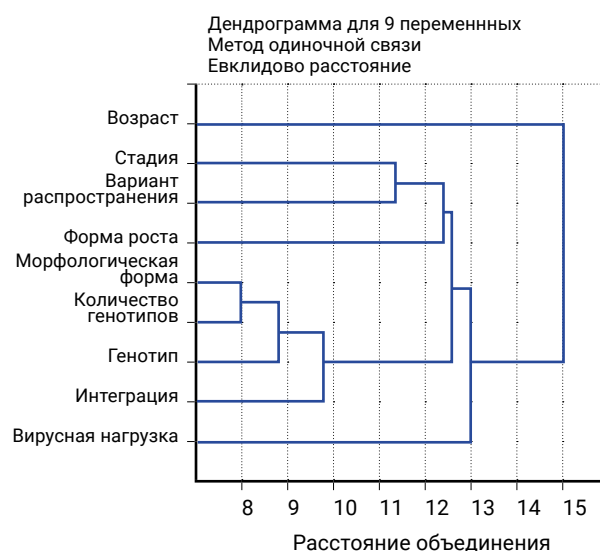


Рис. 11. Дендрограмма ВПЧ-ассоциированных больных РШМ с учетом всего спектра молекулярно-генетических параметров ВПЧ ВКР ($n = 174$)

больных была существенно увеличена, и данная закономерность сохранилась при высокой значимости ($r = -0,41, p < 0,0001$) (рис. 9).

Многофакторный анализ

В целях изучения возможных ассоциативных связей между различными параметрами, характеризующими опухолевый процесс и ВПЧ-инфекцию, был проведен многомерный разведочный анализ с использованием метода кластеризации, который позволил выявить наиболее взаимосвязанные параметры – морфологическая форма опухоли и ВПЧ-статус (рис. 10), а при ВПЧ-позитивном РШМ – морфологическая форма опухоли и следующие особенности ВПЧ-инфекции: количество присутствующих генотипов ВПЧ ВКР, генотипы 16 и 18, физический статус вирусной ДНК – наличие/отсутствие интеграции в геном клетки-хозяина (рис. 11).

Таким образом, многофакторный разведочный анализ позволил обнаружить ассоциативные связи, которые не были получены при попарном сравнении различных факторов, но о которых можно было предположить косвенным путем при изучении результатов однофакторного анализа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение возможных ассоциативных связей между широким спектром молекулярно-генетических параметров ВПЧ-инфекции и клиничко-морфологическими характеристиками злокачественной опухоли шейки матки выявило наличие корреляций между ВПЧ-статусом, генотипом ВПЧ, количеством присутствующих генотипов и известным прогностическим фактором – морфологической формой цервикального рака. В то же время в нашей работе показано отсутствие взаимосвязи таких молекулярно-генетических параметров ВПЧ-инфекции, как генотип и уровень интеграции ДНК вируса в клеточный геном с основным традиционным фактором прогноза эффективности лечения – стадией заболевания. Этот факт позволяет предположить возможность независимого от стадии прогностического значения указанных параметров и обосновывает целесообразность проведения дальнейших исследований по оценке прогностической ценности уровня интеграции ДНК ВПЧ различных генотипов (прежде всего, наиболее часто встречающихся 16 и 18 типов) в качестве потенциальных независимых биомаркеров для прогноза эффективности лечения РШМ.

Список источников

1. Cohen PA, Jhingran A, Oaknin A, Denny L. Cervical cancer. *Lancet*. 2019 Jan 12;393(10167):169–182. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32470-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32470-X)
2. Arbyn M, Weiderpass E, Bruni L, de Sanjosé S, Saraiya M, Ferlay J, et al. Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: a worldwide analysis. *Lancet Glob Health*. 2020 Feb;8(2):e191–e203. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(19\)30482-6](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(19)30482-6)
3. Злокачественные новообразования в России в 2021 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.
4. Choi S, Ismail A, Pappas-Gogos G, Boussios S. HPV and Cervical Cancer: A Review of Epidemiology and Screening Uptake in the UK. *Pathogens*. 2023 Feb 11;12(2):298. <https://doi.org/10.3390/pathogens12020298>
5. Lei J, Ploner A, Elfström KM, Wang J, Roth A, Fang F, et al. HPV Vaccination and the Risk of Invasive Cervical Cancer. *N Engl J Med*. 2020 Oct 1;383(14):1340–1348. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1917338>
6. Li M, Du X, Lu M, Zhang W, Sun Z, Li L, et al. Prevalence characteristics of single and multiple HPV infections in women with cervical cancer and precancerous lesions in Beijing, China. *J Med Virol*. 2019 Mar;91(3):473–481. <https://doi.org/10.1002/jmv.25331>
7. Zhou HL, Zhang W, Zhang C.J, Wang SM, Duan YC, Wang JX, et al. Prevalence and distribution of human papillomavirus genotypes in Chinese women between 1991 and 2016: A systematic review. *J Infect*. 2018 Jun;76(6):522–528. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2018.02.008>
8. Zhang J, Cheng K, Wang Z. Prevalence and distribution of human papillomavirus genotypes in cervical intraepithelial neoplasia in China: a meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*. 2020 Dec;302(6):1329–1337. <https://doi.org/10.1007/s00404-020-05787-w>
9. De Sanjose S, Quint WG, Alemany L, Geraets DT, Klaustermeier JE, Lloveras B, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol*. 2010 Nov;11(11):1048–1056. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(10\)70230-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(10)70230-8)

10. Höhn AK, Brambs CE, Hiller GGR, May D, Schmoeckel E, Horn LC. 2020 WHO Classification of Female Genital Tumors. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 2021 Oct;81(10):1145–1153. <https://doi.org/10.1055/a-1545-4279>
11. Park KJ, Selinger CI, Alvarado-Cabrero I, Duggan MA, Kiyokawa T, Mills AM, et al. Dataset for the Reporting of Carcinoma of the Cervix: Recommendations From the International Collaboration on Cancer Reporting (ICCR). *Int J Gynecol Pathol.* 2022 Nov 1;41(Suppl 1):S64–S89. <https://doi.org/10.1097/PGP.0000000000000909>
12. Xu X, Feng T, Li D, Lou H, Lan H. Prevalent distribution and survival outcome of HPV infection in patients with early-stage cervical cancer in Hangzhou, China. *BMC Infect Dis.* 2022 Dec 15;22(1):941. <https://doi.org/10.1186/s12879-022-07888-0>
13. Im SS, Wilczynski SP, Burger RA, Monk BJ. Early stage cervical cancers containing human papillomavirus type 18 DNA have more nodal metastasis and deeper stromal invasion. *Clin Cancer Res.* 2003 Sep 15;9(11):4145–4150.
14. Ma X, Yang M. The correlation between high-risk HPV infection and precancerous lesions and cervical cancer. *Am J Transl Res.* 2021;13(9):10830–10836.
15. Zuo J, Huang Y, An J, Yang X, Li N, Huang M, et al. Nomograms based on HPV load for predicting survival in cervical squamous cell carcinoma: An observational study with a long-term follow-up. *Chin J Cancer Res.* 2019 Apr;31(2):389–399. <https://doi.org/10.21147/j.issn.1000-9604.2019.02.13>
16. Мкртчян Л. С. Химиолучевое лечение местнораспространенного рака шейки матки и факторы прогноза: дис. ... д-ра мед. наук. Обнинск, 2020, 335 с. EDN: BJWUMO
17. Каприн А.Д., Киселева В.И., Мкртчян Л.С., Замулаева И. А., Шипулина О. Ю., Крикунова Л. И. Способ прогнозирования клинического исхода местно-распространенных форм рака шейки матки. Патент РФ № 2674675. Заявление: 07.02.2018 г.; Опубликовано: 12.12.2018 г.
18. Чуруксаева О. Н. Повышение эффективности лечения больных местнораспространенным раком шейки матки: дис. ... д-ра мед. наук. Томск, 2013, 280 с.
19. Tjalma WA, Fiander A, Reich O, Powell N, Nowakowski AM, Kirschner B, et al. Differences in human papillomavirus type distribution in high-grade cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical cancer in Europe. *Int J Cancer.* 2013 Feb 15;132(4):854–867. <https://doi.org/10.1002/ijc.27713>
20. Шипулина О. Ю. Эпидемиологические особенности и меры профилактики онкогинекологической патологии папилломавирусной этиологии: автореф. дис ... канд. мед. наук. М., 2013, 24 с.
21. Pilch H, Günzel S, Schäffer U, Tanner B, Brockerhoff P, Maeurer M, et al. The presence of HPV DNA in cervical cancer: correlation with clinico-pathologic parameters and prognostic significance: 10 years experience at the Department of Obstetrics and Gynecology of the Mainz University. *Int J Gynecol Cancer.* 2001;11(1):39–48. <https://doi.org/10.1046/j.1525-1438.2001.011001039.x>
22. Okonogi N, Kobayashi D, Suga T, Imai T, Wakatsuki M, Ohno T, et al. Human papillomavirus genotype affects metastatic rate following radiotherapy in patients with uterine cervical cancer. *Oncol Lett.* 2018 Jan;15(1):459–466. <https://doi.org/10.3892/ol.2017.7327>
23. Tong SY, Lee YS, Park JS, Namkoong SE. Human papillomavirus genotype as a prognostic factor in carcinoma of the uterine cervix. *Int J Gynecol Cancer.* 2007;17(6):1307–1313. <https://doi.org/10.1111/j.1525-1438.2007.00933.x>
24. Na J, Li Y, Wang J, Wang X, Lu J, Han S. The correlation between multiple HPV infections and the occurrence, development, and prognosis of cervical cancer. *Front Microbiol.* 2023;14:1220522. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1220522>
25. Zhang L, Bi Q, Deng H, Xu J, Chen J, Zhang M, et al. Human papillomavirus infections among women with cervical lesions and cervical cancer in Eastern China: genotype-specific prevalence and attribution. *BMC Infect Dis.* 2017 Jan 31;17(1):107. <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2223-1>
26. Ibragimova MK, Tsyganov MM, Karabut IV, Churuksaeva ON, Shpileva ON, Bychkov VA, et al. Integrative and episomal forms of genotype 16 of human papillomavirus in patients with cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer. *Vopr Virusol.* 2016 Dec 28;61(6):270–274. <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2016-61-6-270-274>
27. Kim JY, Park S, Nam BH, Roh JW, Lee CH, Kim YH, et al. Low initial human papilloma viral load implicates worse prognosis in patients with uterine cervical cancer treated with radiotherapy. *J Clin Oncol.* 2009 Oct 20;27(30):5088–5093. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.22.4659>
28. Shukla S, Mahata S, Shishodia G, Pande S, Verma G, Hedau S, et al. Physical state & copy number of high risk human papillomavirus type 16 DNA in progression of cervical cancer. *Indian J Med Res.* 2014 Apr;139(4):531–543.
29. Akagi K, Li J, Broutian TR, Padilla-Nash H, Xiao W, Jiang B, et al. Genome-wide analysis of HPV integration in human cancers reveals recurrent, focal genomic instability. *Genome Res.* 2014 Feb;24(2):185–199. <https://doi.org/10.1101/gr.164806.113>

30. Huang SS, Hao DZ, Zhang Y, Liu HM, Shan WS. Progress in studies of the mechanisms and clinical diagnosis of cervical carcinoma associated with genomic integration of high-risk human papillomavirus DNA. *Yi Chuan*. 2017 Sep 20;39(9):775–783. <https://doi.org/10.16288/j.ycz.17-151>
31. Li H, Yang Y, Zhang R, Cai Y, Yang X, Wang Z, et al. Preferential sites for the integration and disruption of human papillomavirus 16 in cervical lesions. *J Clin Virol*. 2013 Apr;56(4):342–347. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2012.12.014>
32. Kiseleva VI, Mkrтчyan LS, Ivanov SA, Lyubina LV, Bezyaeva GP, Panarina LV, et al. The Presence of Human Papillomavirus DNA Integration is Associated with Poor Clinical Results in Patients with Third-Stage Cervical Cancer. *Bull Exp Biol Med*. 2019 Nov;168(1):87–91. <https://doi.org/10.1007/s10517-019-04654-2>
33. Nambaru L, Meenakumari B, Swaminathan R, Rajkumar T. Prognostic significance of HPV physical status and integration sites in cervical cancer. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2009;10(3):355–360.
34. De Boer MA, Jordanova ES, Kenter GG, Peters AA, Corver WE, Trimbos JB, et al. High human papillomavirus oncogene mRNA expression and not viral DNA load is associated with poor prognosis in cervical cancer patients. *Clin Cancer Res*. 2007 Jan 1;13(1):132–138. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-1568>
35. Киселева В. И., Крикунова Л. И., Любина Л. В., Мкртчян Л. С., Безяева Г. П., Панарина Л. В. и др. Количественная нагрузка вируса папилломы человека 16 типа и прогнозирование эффективности лечения рака шейки матки. *Радиация и риск (бюллетень национального радиационно-эпидемиологического регистра)*. 2011;20(2):58–63. EDN: NYGSPX

Информация об авторах:

Мкртчян Лиана Сирекановна ✉ – д.м.н., ведущий научный сотрудник МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Обнинск, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5027-5331>, SPIN: 3352-0814, AuthorID: 147713, ResearcherID: JBJ-0493-2023, Scopus Author ID: 6601999343

Киселева Валентина Ивановна – к.б.н., ведущий научный сотрудник, Медицинский радиологический научный центр им. А. Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Обнинск, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3565-1981>, SPIN: 2865-4070, AuthorID: 81608, ResearcherID: T-1073-2017, Scopus Author ID: 7004413804

Крикунова Людмила Ивановна – д.м.н., профессор, главный научный сотрудник, Медицинский радиологический научный центр им. А. Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Обнинск, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1842-156X>, SPIN: 2845-6710, AuthorID: 93505, ResearcherID: JCT-3165-2023, Scopus Author ID: 6506081959

Бойко Борис Викторович – аспирант, Медицинский радиологический научный центр им. А. Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Обнинск, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-6821-5335>, ResearcherID: JDC-4676-2023

Гусарова Виктория Романовна – аспирант, Медицинский радиологический научный центр им. А. Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Обнинск, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7819-2730>, ResearcherID: HMD-3406-2023

Безяева Галина Петровна – научный сотрудник, Медицинский радиологический научный центр им. А. Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Обнинск, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4942-6892>, SPIN: 8900-4710, AuthorID: 87889, ResearcherID: JFJ-8132-2023, Scopus Author ID: 6506415163

Панарина Лариса Викторовна – научный сотрудник, Медицинский радиологический научный центр им. А. Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Обнинск, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-9237-2869>, SPIN: 9602-8908, AuthorID: 113918, ResearcherID: JFJ-8238-2023, Scopus Author ID: 6506225026

Иванов Сергей Анатольевич – д.м.н., член-корреспондент РАН, директор Медицинского радиологического научного центра им. А. Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Обнинск, Российская Федерация; профессор кафедры онкологии и рентгенодиагностики им. В. П. Харченко Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7689-6032>, SPIN: 4264-5167, AuthorID: 710405, ResearcherID: N-8221-2017, Scopus Author ID: 16070399200

Каприн Андрей Дмитриевич – д.м.н., профессор, академик РАН, академик РАО, директор Московского научно-исследовательского онкологического института им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация; генеральный директор, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Обнинск, Российская Федерация;

Мкртчян Л. С.[✉], Киселева В. И., Крикунова Л. И., Бойко Б. В., Гусарова В. Р., Безяева Г. П., Панарина Л. В., Иванов С. А., Каприн А. Д., Замулаева И. А. Статус и молекулярно-генетические параметры папилломавирусной инфекции: индивидуальные особенности и ассоциативные связи с клинико-морфологическими факторами рака шейки матки

заведующий кафедрой онкологии и рентгенодиагностики им. В. П. Харченко Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8784-8415>, SPIN: 1759-8101, AuthorID: 96775, ResearcherID: K-1445-2014, Scopus Author ID: 6602709853

Замулаева Ирина Александровна – д.б.н., профессор, заведующая отделом радиационной биохимии, Медицинский радиологический научный центр им. А. Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Обнинск, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6136-8445>, SPIN: 9542-6211, AuthorID: 87777, ResearcherID: R-4906-2016, Scopus Author ID: 6603693422

Вклад авторов:

Мкртчян Л. С. – научная обработка литературных данных по теме публикации, сбор клинического материала, статистический анализ клинико-экспериментальных данных, написание текста статьи, обсуждение и интерпретация результатов исследования;
Киселева В. И. – оптимизация методов молекулярно-генетического исследования, анализ полученных результатов и ведение базы данных, участие в написании и редактировании текста статьи;
Крикунова Л. И. – планирование клинической части исследования, обсуждение полученных клинических данных;
Бойко Б. В. – сбор и оформление литературы, перевод текста на английский язык;
Гусарова В. Р. – сбор и анализ литературы;
Безяева Г. П. – сбор и обработка биологического материала, проведение ПЦР-исследований на наличие ДНК ВПЧ ВКР;
Панарина Л. В. – сбор и обработка биологического материала, проведение ПЦР-исследований на наличие ДНК ВПЧ ВКР;
Иванов С. А. – научное редактирование и утверждение окончательного текста;
Каприн А. Д. – научное резюмирование;
Замулаева И. А. – разработка концепции и научного дизайна исследования, интерпретация полученных клинико-экспериментальных данных, научное редактирование статьи, резюмирование полученных результатов, формулировка выводов.



ФГБУ "НМИЦ онкологии"
МИНЗДРАВА РОССИИ

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

South Russian Journal of Cancer
PEER-REVIEWED SCIENTIFIC AND PRACTICAL

www.cancersp.com

