



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 № 3/2024

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 результатах 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 20.09.2024

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

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

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

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, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия

Костин Андрей Александрович,
чл.- корр. РАН, д.м.н., проф., ФГАОУ 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, ФГАОУ 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., ФГАОУ 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;

- 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.

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 20.09.2024

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

Использование жидких гемостатических матриц для предупреждения кровоизлияний при выполнении стереотаксической биопсии опухолей головного мозга Э. Е. Росторгуев, Н. С. Кузнецова, С. Э. Кавицкий, Б. В. Матевосян, Г. А. Резник, В. Е. Хатюшин, О. И. Кит.....	8
Опыт создания первичных культур рака эндометрия и исследования в них клеток, обладающих фенотипом опухолевых стволовых клеток С. Ю. Филиппова, И. В. Межевова, Т. В. Чембарова, И. А. Новикова, Е. В. Вереникина, О. Е. Женило, В. В. Половодова, А. В. Шапошников, Е. В. Шалашная, А. А. Маслов, О. Г. Ишонина	16
Прогностические факторы, влияющие на показатели выживаемости у больных старческого возраста с метастатическим почечноклеточным раком Д. В. Семенов, Р. В. Орлова, В. И. Широкоград, С. В. Кострицкий, П. В. Кононец	31
Рентгенэндоваскулярная хирургия в лечении пациентов с ишемической болезнью сердца в сочетании со злокачественными новообразованиями Б. Г. Алекаян, А. А. Грицкевич, Н. Г. Карапетян, Д. В. Ручкин, А. А. Печетов, П. В. Марков, Б. Н. Гурмиков, Н. Л. Иродова, Л. Г. Гёлецын, Е. В. Токмаков, А. В. Галстян, А. Ш. Ревишвили	39
Клеточные, геномные и транскриптомные эффекты вторичных метаболитов Белокопытника гибридного на клеточную линию HeLa Е. Ю. Златник, Я. С. Енин, О. Н. Буров, Е. С. Бондаренко, А. Б. Сагакянц, Д. С. Кутилин, Ю. В. Дзигунова, И. А. Новикова, Ю. В. Пржедецкий	50
Изменения концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК и ДНК дикого типа гена <i>H3F3A</i> (K27M) в крови и люмбальном ликворе у детей с диффузными срединными глиомами на фоне курса лучевой терапии О. С. Регентова, В. К. Боженко, Е. А. Кудинова, Т. М. Кулинич, Е. Л. Джикия, В. В. Каминский, Ф. Ф. Антоненко, Р. А. Пархоменко, Н. И. Зелинская, Н. Сидибе, П. В. Полушкин, А. И. Шевцов, М. А. Близниченко, В. А. Солодкий	64
Транскриптомный профиль мочи при злокачественных новообразованиях яичника Д. С. Кутилин, Ф. Е. Филиппов, Н. В. Порханова, А. Ю. Максимов	76

ОРИГИНАЛЬНЫЕ
СТАТЬИ

- Метаболомный профиль злокачественных опухолей яичника
Ф. Е. Филиппов, Д. С. Кутилин, А. Ю. Максимов, Н. В. Порханова 91

ОБЗОРЫ

- Современные хирургические стратегии лечения метастатического
колоректального рака (обзор литературы)
О. И. Кит, Ю. А. Геворкян, Н. В. Солдаткина, В. Е. Колесников,
О. К. Бондаренко, А. В. Дашков 102
- Экстраневральное метастазирование глиомы головного мозга:
описание случая у ребенка и обзор литературы
О. С. Регентова, Р. А. Пархоменко, О. И. Щербенко, Ф. Ф. Антоненко,
Н. И. Зелинская, Н. Сидибе, П. В. Полушкин, А. И. Шевцов, М. А. Близниченко,
В. А. Деянова, В. А. Солодкий 111

ORIGINAL ARTICLES

The implication of liquid hemostatic matrices to prevent hemorrhages during stereotactic biopsy of brain tumors <i>E. E. Rostorguev, N. S. Kuznetsova, S. E. Kavitskiy, B. V. Matevosyan, G. A. Reznik, V. E. Khatyushin, O. I. Kit</i>	8
Experience in creating primary cultures of endometrial cancer and studying cells carrying phenotype of cancer stem cells <i>S. Yu. Filippova, I. V. Mezhevova, T. V. Chembarova, I. A. Novikova, E. V. Verenikina, O. E. Zhenilo, V. V. Polovodova, A. V. Shaposhnikov, E. V. Shalashnaya, A. A. Maslov, O. G. Ishonina</i>	16
Prognostic factors influencing survival rates in elderly patients with metastatic renal cell carcinoma <i>D. V. Semyonov, R. V. Orlova, V. I. Shirokorad, S. V. Kostritsky, P. V. Kononets</i>	31
Endovascular surgery in patients with coronary artery disease in combination with cancer <i>B. G. Alekyan, A. A. Gritskevich, N. G. Karapetyan, D. V. Ruchkin, A. A. Pechetov, P. V. Markov, B. N. Gurmikov, N. L. Irodova, L. G. Gyoletsyan, E. V. Tokmakov, A. V. Galstyan, A. Sh. Revishvili</i>	39
Cellular, genomic and transcriptomic effects of secondary metabolites of the Hybrid Butterbur on the HeLa cell line <i>E. Yu. Zlatnik, Ya. S. Enin, O. N. Burov, E. S. Bondarenko, A. B. Sagakyants, D. S. Kutilin, Yu. V. Dzigunova, I. A. Novikova, Yu. V. Przhedetskiy</i>	50
Changes in the concentration of freely circulating mutant DNA and wild-type DNA of the <i>H3F3A</i> (K27M) gene in the blood and cerebrospinal fluid of children with diffuse midline gliomas during a course of radiation therapy <i>O. S. Regentova, V. K. Bozhenko, E. A. Kudinova, T. M. Kulinich, E. L. Dzhikiya, V. V. Kaminskiy, F. F. Antonenko, R. A. Parkhomenko, N. I. Zelinskaya, N. Sidibe, P. V. Polushkin, A. I. Shevtsov, M. A. Bliznichenko, V. A. Solodkiy</i>	64
Urine transcriptomic profile in terms of malignant ovarian tumors <i>D. S. Kutilin, F. E. Filippov, N. V. Porkhanova, A. Yu. Maksimov</i>	76
Metabolomic profile of malignant ovarian tumors <i>F. E. Filippov, D. S. Kutilin, A. Yu. Maksimov, N. V. Porkhanova</i>	91
Modern strategy of metastatic colorectal cancer treatment (literature review) <i>O. I. Kit, Yu. A. Gevorkyan, N. V. Soldatkina, V. E. Kolesnikov, O. K. Bondarenko, A. V. Dashkov</i>	102

REVIEWS

REVIEWS

Extraneural metastases of a cerebral glioma in a child: case report with literature review	
<i>O. S. Regentova, R. A. Parkhomenko, O. I. Shcherbenko,</i>	
<i>F. F. Antonenko, N. I. Zelinskaya, N. Sidibe, P. V. Polushkin,</i>	
<i>A. I. Shevtsov, M. A. Bliznichenko, V. A. Deyanova, V. A. Solodkiy</i>	111

Использование жидких гемостатических матриц для предупреждения кровоизлияний при выполнении стереотаксической биопсии опухолей головного мозга

Э. Е. Росторгуев[✉], Н. С. Кузнецова, С. Э. Кавицкий, Б. В. Матевосян, Г. А. Резник,
В. Е. Хатюшин, О. И. Кит

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

✉ ed.rost@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Разработка способа предупреждения кровоизлияний при выполнении стереотаксической биопсии опухоли головного мозга с использованием жидких гемостатических матриц на примере препарата «FloSeal®».

Пациенты и методы. Цель биопсии – наиболее репрезентативный участок опухолевой ткани по данным различных модальностей МРТ нейровизуализации, в том числе и с контрастным усилением.

Из 133 пациентов в изучаемую группу включено 60 больных с признаками интраоперационного кровотечения по канюле биопсийной иглы. Далее, методом независимой последовательной рандомизации пациенты с признаками интраоперационного кровотечения по канюле биопсийной иглы разделены на 2 подгруппы. Контрольная подгруппа ($n = 45$): случаи с признаками интраоперационного кровотечения различной степени выраженности, оперированы по стандартной методике, без использования жидкого гемостатического препарата «FloSeal®». Основная подгруппа ($n = 15$): при интраоперационных признаках кровотечения в зону изъятия опухолевого материала осуществлялось введение гемостатического текучего препарата «FloSeal®».

Результаты. У 6,7 % пациентов контрольной подгруппы в послеоперационном периоде отмечено формирование массивных внутримозговых кровоизлияний. В 53,3 % наблюдений контрольной подгруппы по данным рентген компьютерных исследований головного мозга имелись признаки незначительных кровоизлияний в точке забора опухолевого материала, не требовавшие повторных оперативных вмешательств. Послеоперационные кровоизлияния после введения в биопсийную иглу жидкой гемостатической матрицы «FloSeal®» в основной подгруппе по данным РКТ нейровизуализации не выявлены.

Заключение. Разработан способ гемостаза для предупреждения кровоизлияний с использованием жидких гемостатических матриц. При появлении признаков кровотечения из биопсийной иглы введение гемостатической матрицы в объеме 2 мл способствует остановке кровотечения интраоперационно, а также профилактике возникновения кровоизлияния в раннем послеоперационном периоде.

Ключевые слова: опухоль головного мозга, стереотаксическая биопсия, профилактика кровотечения, геморрагические осложнения биопсии головного мозга, кровоизлияние, гемостаз

Для цитирования: Росторгуев Э. Е., Кузнецова Н. С., Кавицкий С. Э., Матевосян Б. В., Резник Г. А., Хатюшин В. Е., Кит О. И. Использование жидких гемостатических матриц для предупреждения кровоизлияний при выполнении стереотаксической биопсии опухолей головного мозга. Южно-Российский онкологический журнал. 2024; 5(3): 8-15. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-3-1>, <https://elibrary.ru/cztobq>

Для корреспонденции: 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
Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63
E-mail: ed.rost@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2937-0470>
SPIN: 8487-9157, AuthorID: 794808
Scopus Author ID: 57196005138

Соблюдение этических стандартов: в работе соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ред. 2013). Исследование одобрено Комитетом по биомедицинской этике при ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (выписка из протокола заседания № 7 от 08.08.2022 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 01.09.2023; одобрена после рецензирования 20.06.2024; принята к публикации 27.07.2024

© Росторгуев Э. Е., Кузнецова Н. С., Кавицкий С. Э., Матевосян Б. В., Резник Г. А., Хатюшин В. Е., Кит О. И., 2024

The implication of liquid hemostatic matrices to prevent hemorrhages during stereotactic biopsy of brain tumors

E. E. Rostorguev[✉], N. S. Kuznetsova, S. E. Kavitskiy, B. V. Matevosyan, G. A. Reznik, V. E. Khatyushin, O. I. Kit

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

✉ ed.rost@mail.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. Development of a method for preventing hemorrhages during stereotactic biopsy of a brain tumor using liquid hemostatic matrices on the example of the drug "FloSeal®".

Patients and methods. The target of the biopsy is the most representative area of tumor tissue according to the data of various modalities of MRI neuroimaging, including contrast-enhanced ones. Out of 133 patients, 60 patients with signs of intraoperative bleeding along the biopsy needle cannula were included in the study group. Further, patients with signs of intraoperative bleeding along the cannula of the biopsy needle were divided into 2 subgroups by independent sequential randomization. Control subgroup ($n = 45$): cases with signs of intraoperative bleeding of varying severity were operated on, according to the standard technique, without the use of the liquid hemostatic drug FloSeal®. The main subgroup ($n = 15$): in case of intraoperative signs of bleeding, the hemostatic fluid drug FloSeal® was injected into the area of tumor material removal.

Results. In 6.7 % of patients of the control subgroup, the formation of massive intracerebral hemorrhages was noted in the postoperative period. In 53.3 % of the observations of the control subgroup according to X-ray computer examinations of the brain, there were signs of minor hemorrhages at the point of tumor material collection, which did not require repeated surgical interventions. Postoperative hemorrhages after injection of the FloSeal® liquid hemostatic matrix into the biopsy needle in the study subgroup were not detected according to neuroimaging X-ray CT.

Conclusion. A method of hemostasis has been developed to prevent hemorrhages using liquid hemostatic matrices. If signs of bleeding from the biopsy needle appear, the introduction of a hemostatic matrix in the volume of 2 ml helps to manage bleeding intraoperatively, as well as to prevent the occurrence of hemorrhage in the early postoperative period.

Keywords: brain tumor, stereotactic biopsy, bleeding prevention, hemorrhagic complications of brain biopsy, hemorrhage, hemostasis

For citation: Rostorguev E. E., Kuznetsova N. S., Kavitskiy S. E., Matevosyan B. V., Reznik G. A., Khatyushin V. E., Kit O. I. The implication of liquid hemostatic matrices to prevent hemorrhages during stereotactic biopsy of brain tumors. South Russian Journal of Cancer. 2024; 5(3): 8-15. (In Russ.).
<https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-3-1>, <https://elibrary.ru/cztobq>

For correspondence: Eduard E. Rostorguev – Dr. Sci. (Med.), MD, head 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: ed.rost@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2937-0470>
SPIN: 8487-9157, AuthorID: 794808
Scopus Author ID: 57196005138

Compliance with ethical standards: this study adhered to the ethical principles outlined in 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 Centre for Oncology (extract from the protocol of the meeting No. 7 dated 08/08/2022). Informed consents have been obtained from all 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 01.09.2023; approved after reviewing 20.06.2024; accepted for publication 27.07.2024

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время игольчатая стереотаксическая биопсия (СТБ) новообразований головного мозга различной степени злокачественности выполняется в анатомически труднодоступных зонах головного мозга и при локализации опухоли в функционально значимых зонах головного мозга [1–4].

Учитывая отсутствие визуального интраоперационного контроля траектории иглы, грозным осложнением после проведения СТБ, несмотря на малоинвазивность вмешательства, является кровоизлияние в зоне изъятия биопсийного материала, а также вдоль траектории доступа биопсийной иглы [5–9].

Цель исследования: разработка способа предупреждения кровоизлияний при выполнении стереотаксической биопсии опухоли головного мозга с использованием жидких гемостатических матриц на примере препарата «FloSeal®».

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

С 2014 по 2020 гг. с использованием метода безрамной игольчатой стереотаксической биопсии прооперированы 133 пациента с опухолями головного мозга. Информированное согласие на оперативное вмешательство получено от всех участников исследования. В наших наблюдениях опухолевые заболевания манифестировали в возрасте от 5 до 80 лет. Средний возраст больных составил 56 лет. 57 % составляли мужчины, а 43 % – женщины. С одиночными очагами поражения головного мозга оперированы 75,5 %, с двумя очагами – 10,5 %. 14 % пациентов имели множе-

ственное не верифицированное поражение центральной нервной системы (ЦНС).

Новообразования в 28,3 % наблюдений локализовались в подкорковых структурах головного мозга, в 18,3 % – в различных отделах мозолистого тела с двусторонним распространением, в 53,4 % – в перивентрикулярных областях под функционально значимыми зонами головного мозга.

Неврологическая симптоматика зависела от локализации очага поражения в головном мозге. При поступлении функциональный статус по шкале Карновского в 100–80 баллов отмечен у 71,7 % пациентов, 70–50 баллов – у 21,7 % больных, ниже 40 баллов отмечен в 6,6 % наблюдений. Всем больным в дооперационном периоде проводилась комплексная оценка системы гемостаза.

Точку забора ткани определяли методом совмещения MRT T1 BRAVO с внутривенным контрастным усилением с данными DTI, 2D-TOF, 3D-TOF, T2, ASL, SWAN режимами. При необходимости в программной оболочке планирования Brainlab® или Medtronic StealthStation® S7® цифровая модель совмещалась с DICOM данными позитронно-эмиссионной-томографии (ПЭТ КТ) с 11С-метионином. Траектория введения биопсийной иглы строилась с учетом данных трактографии, при локализации опухоли в функционально значимых зонах головного мозга (рис. 1).

Цель биопсии – наиболее репрезентативный участок опухолевой ткани по данным различных модальностей МРТ нейровизуализации, в том числе и с контрастным усилением. Оперативное вмешательство выполняли в условиях общей анестезии, согласно операционному регламенту фирм производителей систем для безрамной стереотаксиче-

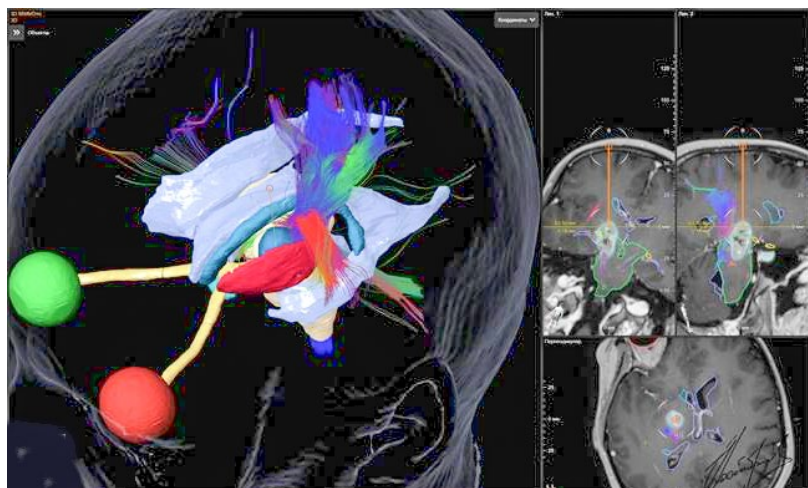


Рис. 1. Планирование траектории доступа с учетом функционально значимых зон головного мозга

ской биопсии Brainlab® или Medtronic StealthStation® S7® с применением игл для биопсии Biopsy Needle Kit (9733068) или Biopsy Needle Kit Tip A (41778C).

Контрольную компьютерную томографию выполняли интраоперационно или в течение 24 часов после операции.

Из 133 пациентов в изучаемую группу включено 60 больных с признаками интраоперационного кровотечения по канюле биопсийной иглы (45,1 %). Далее методом независимой последовательной рандомизации пациенты с признаками интраопе-

рационного кровотечения по канюле биопсийной иглы разделены на 2 подгруппы.

Контрольная подгруппа ($n = 45$): случаи с признаками интраоперационного кровотечения различной степени выраженности оперированы по стандартной методике, без использования жидких гемостатических матриц.

Основная подгруппа ($n = 15$): при интраоперационных признаках кровотечения в зону изъятия опухолевого материала осуществлялось введение гемостатического текучего препарата «Floseal®».

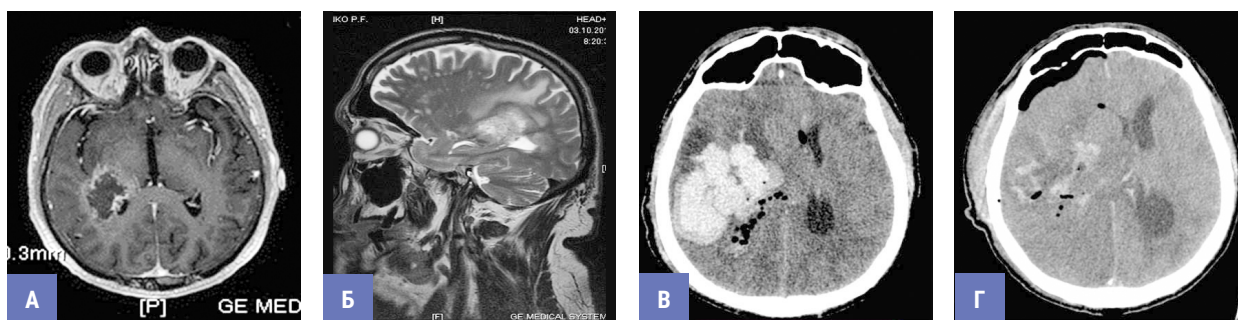


Рис. 2. Больной Т., 67 лет. А, Б – данные МРТ нейровизуализации опухолевого поражения, госпитализирован 07.10.2016 г. с диагнозом опухоль височной, теменной доли и островка с распространением на таламический бугор. 10.10.2016 г. выполнена стереотаксическая биопсия. Гистологическое исследование: глиобластома. В ближайшем послеоперационном периоде пациент находился в сознании. Через 7 часов после окончания операции у пациента отмечено внезапное угнетение сознания до комы I, появление правосторонней анизокории, быстрым развитием вторичных ишемических стволовых повреждений в виде угнетения фотореакции зрачков, выпадения окулоцефалических рефлексов. Выполнена РКТ головного мозга, визуализировано обширное кровоизлияние (В) в области опухоли с распространением в височную и теменную доли головного мозга, прорыв крови в желудочковую систему головного мозга, выраженный латеральный дислокационный синдром влево, вторичные ишемические повреждения головного мозга. Взят в операционную по жизненным показаниям. Г – послеоперационное РКТ головного мозга: гематома и опухоль удалена. Летальный исход 12.10.2016 г.

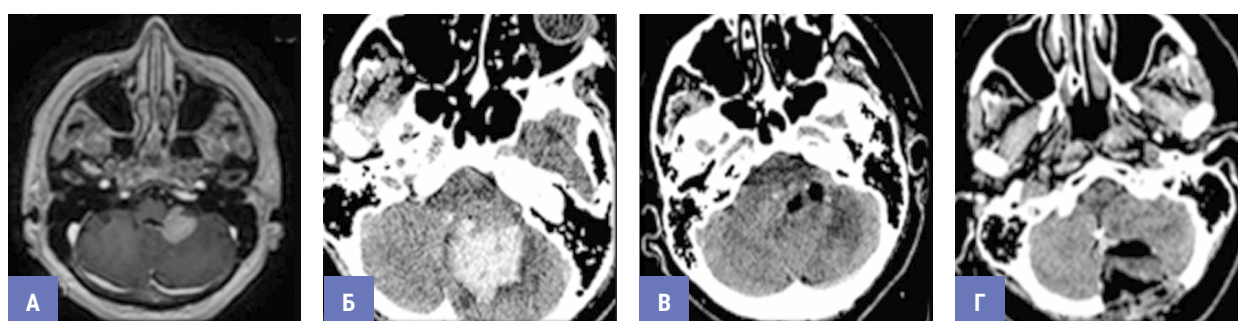


Рис. 3. А–Г. Больная Ч., 58 лет госпитализирована 08.11.2016 г. с подозрением на лимфому левого полушария мозжечка с инфильтрацией крыши 4 желудочка. 09.11.2016 г. выполнена стереотаксическая биопсия опухоли. Гистологическое исследование: неходжкинская лимфома. В связи с формированием гематомы в зоне биопсии опухоли 10.11.2016 г. выполнена срочная установка в передний рог правого бокового желудочка ликвородренирующей системы по Арентду, 10.11.2016 г. – субтотальное удаление опухоли левого полушария мозжечка с ростом в мостомозжечковый угол с применением нейрофизиологического мониторинга, интраоперационной флюоресцентной микроскопии, удаление интрацеребральной гематомы в ложе удаленной опухоли левого полушария мозжечка. В дальнейшем послеоперационный период протекал без осложнений. Контрольная РКТ головного мозга от 11.11.2016 г.: состояние после рекраниотомии в субокципитальной области. В зоне операции участки пониженной плотности, послеоперационная полость $3,7 \times 3,5 \times 3,1$ см, срединные структуры не смещены. Пациентка выписана в удовлетворительном состоянии

Подгруппы были сопоставимы по полу, возрасту, локализации и гистологическим типам опухоли. Нами проанализированы осложнения, возникшие в данных подгруппах с использованием метода рентген-компьютерной томографии (РКТ), выполненной в первые 24 часа после операции. Все необходимые данные пациентов фиксировались в электронной базе данных Microsoft Excel, после чего проводился анализ данных в программе Statistica 10.0. При обработке полученных данных пациентов в контрольной и основной группе проводилась оценка на основе непараметрического метода хи-квадрат Пирсона (χ^2).



Рис. 4. РКТ нейровизуализация послеоперационного, клинически незначимого микрокровоизлияния в зоне изъятия биопсийного материала

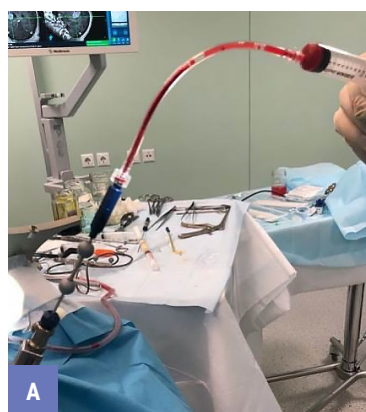


Рис. 5. А – интраоперационные признаки кровотечения – выделение сгустков крови из биопсийной иглы. Б – после приготовления жидкой гемостатической матрицы «FloSeal®» и заполнения ею внутреннего стилета биопсийной иглы осуществляется последующее введение жидкой гемостатической матрицы в объеме 2 мл

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В группе из 133 наблюдений новообразования морфологически верифицированы во всех случаях. В 43,7 % верифицированы глиомы высокой степени злокачественности Grade III–IV, Grade II – в 40,5 %, в 11,4 % – лимфомы ЦНС, в 4,4 % – метастазы железистого и плоскоклеточного рака.

Летальность после СТБ в группе из 133 пациентов составила 0,75 % (у одного пациента в ближайшем послеоперационном периоде отмечено формирование массивной внутримозговой гематомы, что потребовало выполнение срочного оперативного вмешательства зоны опухолевого поражения, локализованной в функционально-значимой зоне головного мозга (рис. 2)).

Нами установлено, что у 6,7 % пациентов контрольной подгруппы в послеоперационном периоде отмечено формирование массивных внутримозговых кровоизлияний (рис. 3), требующих повторных оперативных вмешательств, удаления как внутримозгового, так и внутриопухолевого кровоизлияния с вынужденной циторедукцией опухоли в функционально значимой зоне. Летальность в контрольной подгруппе составила 2,2 %.

В 53,3 % наблюдений контрольной подгруппы по данным рентген-компьютерных исследований головного мозга, выполненных в первые 24 часа после операции или интраоперационно, выявлены незначительные кровоизлияния в точке забора опухолевого материала, требующие задержки пребывания больного в стационаре и выполнения повторных методов нейровизуализации (рис. 4).

Методика игольчатой безрамной стереотаксической биопсии в основной подгруппе ($n = 15$) была стандартной. Если в ходе получения опухолевого материала по биопсийной игле отмечались при-

знаки кровотечения в виде выделения кровяных сгустков, крови редкой, частой каплей или струей, производилось приготовление гемостатической матрицы «Floseal®» согласно инструкции по применению препарата (рис. 5). Препарат разрешен к применению на территории РФ (РУ № 2019/8305 от 18.04.2019 г.). «Floseal®» широко используется в абдоминальной, сосудистой и нейрохирургии в качестве аппликационного местного гемостатика [10].

В канюлю внутреннего стилета биопсийной иглы до полного заполнения вводили жидкую гемостатическую матрицу. После введения канюли в биопсийную иглу, дополнительно вводилась гемостатическая матрица в объеме около 2 мл. Нами установлена удовлетворительная возможность нагнетания данного препарата в послеоперационную полость через отверстие иглы для стереотаксической биопсии. Далее биопсионная игла извлекалась, фрезевое отверстие заполнялось костной стружкой, обеспечивая герметичное закрытие костного дефекта с последующим ушиванием мягких тканей. Интраоперационно, или в течение нескольких часов после пробуждения, пациенту выполнялась РКТ нейровизуализация головного мозга для оценки послеоперационных изменений и исключения геморрагических осложнений (рис. 6).

Кровоизлияний и послеоперационных осложнений у пациентов основной подгруппы ($n = 15$) не отмечено ($\chi^2 = 3,99$; $p = 0,0458$).

В контрольной подгруппе ($n = 45$) процент клинически значимых кровоизлияний составил 6,7 %, что потребовало повторных вмешательств, удаления как внутримозгового, так и внутриопухолевого кровоизлияния. Процент клинически незначимых кровоизлияний в контрольной подгруппе составил 53,3 %. Летальность в контрольной подгруппе составила 2,2 %.

ОБСУЖДЕНИЕ

В международном исследовании Malone Hani и соавт. [11] проанализировано 7514 пациентов после СТБ. Наиболее частым осложнением СТБ являлось хирургически значимое внутримозговое кровотечение, которое было диагностировано у 5,8 % пациентов. Факторы риска кровотечения в данном исследовании ассоциированы с возрастом выше 40 лет, гидроцефалией и отеком головного мозга. Стационарная смертность по данным исследования составила 2,8 % [11].

В других публикациях с различными сериями пациентов факторы риска кровотечения после СТБ четко не определены, либо связывались авторами с различной степенью достоверности: с локализацией патологического очага, например в стволе мозга [8, 9], с артериальной гипертензией, с нарушением функции печени, со злокачественным характером опухоли ЦНС [12, 13].

По данным К. К. Куканова и соавт., после выполнения контрольной РКТ нейровизуализации наличие кровоизлияний отмечено в 40 % наблюдений [14]. Из них клинически незначимые отмечены в 25 %, крупные диффузные кровоизлияния с клинической картиной в 5 %, внутрижелудочковые кровоизлияния с выраженной клинической картиной в 10 % случаев. Снижение риска внутричерепных кровоизлияний после процедуры СТБ опухолевой ткани исследователи видят в тщательном предоперационном планировании траектории биопсии, использовании современных стереотаксических установок и биопсийных канюль, а также применении предоперационной гемостатической терапии у пациентов при подозрении на высокую степень анаплазии опухоли [14].



Рис. 6. Пример данных РКТ нейровизуализации головного мозга через 40 минут после оперативного вмешательства у пациента с применением «Floseal®». В левой височной доле визуализируется пониженная плотность, соответствующая точке биопсии. Кровоизлияние в области изъятия опухолевой ткани не обнаружено

В статье De Quintana-Schmidt C. и соавт. (2019) [15] опубликованы результаты использования тромбин-желатиновой матрицы в трех случаях интенсивного кровотечения во время процедуры СТБ. Предварительные результаты работы показали, что инъекция тромбин-желатинового матрикса – это безопасная и эффективная процедура для лечения стойких хирургических кровотечений, которые не могут быть выполнены традиционными гемостатическими методами, используемыми в нейрохирургии [12].

Представленные исследования не дают четкого представления о способах повышения безопасности выполнения стереотаксической биопсии. Перед нейрохирургом встают актуальные вопросы: что выбрать в качестве надежного гемостатического средства, какой способ введения использовать, как рассчитать вводимую дозу препарата?

Основываясь на данных нашего исследования, проводимого с 2014 по 2020 гг., на достаточной выборке пациентов найден надежный способ гемостаза при игольчатых стереотаксических методиках забора опухолевого материала. Нами предложена методика введения жидкой гемостатической матрицы в качестве профилактики интраоперационных кровотечений при выполнении СТБ.

В ходе нашего исследования отмечено, что осложнений, клинически значимых кровоизлияний или микрокровоизлияний в подгруппе больных

с кровотечением по биопсийной игле после введения жидкой гемостатической матрицы не отмечено. Напротив, в подгруппе пациентов со стандартным выполнением процедуры стереотаксической биопсии, в случаях интраоперационного кровотечения по биопсийной игле, макро- и микрокровоизлияния в совокупности отмечены у 60 % больных, повторные оперативные вмешательства выполнены в 6,7 % случаев, а летальность составила 2,2 %.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При появлении признаков кровотечения из биопсийной иглы в ходе выполнения стереотаксической биопсии опухоли головного мозга возможно введение жидкой гемостатической матрицы в объеме 2 мл в точку изъятия опухолевой ткани. Предложенный способ предупреждения кровоизлияний демонстрирует потенциальное решение единственного серьезного вида осложнений при данном малоинвазивном диагностическом вмешательстве. Жидкая гемостатическая матрица в качестве интраоперационного гемостаза в точке забора биопсийного материала после выполнения стереотаксического вмешательства способствует предупреждению развития или остановке кровотечения интраоперационно, а также профилактирует возникновение кровоизлияний и осложнений в раннем послеоперационном периоде.

Список источников

1. Кит О. И., Франциянц Е. М., Росторгуев Э. Е., Кузнецова Н. С., Поркшеян Д. Х., Кавицкий С. Э. и др. Нейрохирургические осложнения стереотаксической биопсии опухолей головного мозга. Тезисы первого международного форума онкологии и радиологии. Исследования и практика в медицине. 2018;5(2S):178. <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2018-5-S2>, EDN: XZCOYH
2. Кит О. И., Росторгуев Э. Е., Дженкова Е. А., Новикова И. А., Вереникина Е. В., Снежко А. В. и др. Нейроэктодермальные опухоли ЦНС: учебно пособие. Ростов-на-Дону: Изд-во «Новочеркасск: Лик», 2022, 88 с.
3. Росторгуев Э. Е. Новые подходы к диагностике и экспериментальной терапии глиальных опухолей высокой степени злокачественности. Дисс. ... докт. мед. наук. Ростов-на-Дону, 2021, 300 с.
4. Холявин А. И. Принципы расчетной предоперационной подготовки многоцелевого стереотаксического наведения у пациентов с глиомами головного мозга. Автореферат дисс. ... докт. мед. наук. Санкт-Петербург, 2012, 226 с.
5. Maragkos GA, Penumaka A, Ahrendsen JT, Salem MM, Nelton EB, Alterman RL. Factors Affecting the Diagnostic Yield of Frame-Based Stereotactic Intracranial Biopsies. World Neurosurg. 2020 Mar;135:e695–701. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2019.12.102>
6. Nevzati E, Chatain GP, Hoffman J, Kleinschmidt-DeMasters BK, Lillehei KO, Ormond DR. Reliability of fluorescein-assisted stereotactic brain biopsies in predicting conclusive tissue diagnosis. Acta Neurochir (Wien). 2020 Aug;162(8):1941–1947. <https://doi.org/10.1007/s00701-020-04318-5>
7. Stokes ME, Ye X, Shah M, Mercaldi K, Reynolds MW, Rupnow MFT, et al. Impact of bleeding-related complications and/or blood product transfusions on hospital costs in inpatient surgical patients. BMC Health Serv Res. 2011 May 31;11:135. <https://doi.org/10.1186/1472-6963-11-135>

8. Gazzeri R, Galarza M, Neroni M, Alfieri A, Esposito S. Minimal craniotomy and matrix hemostatic sealant for the treatment of spontaneous supratentorial intracerebral hemorrhage. *J Neurosurg.* 2009 May;110(5):939–942.
<https://doi.org/10.3171/2008.8.JNS17642>
9. Li H, Zheng C, Rao W, Sun J, Yu X, Zhang J. The risk factors of hemorrhage in stereotactic needle biopsy for brain lesions in a large cohort: 10 years of experience in a single center. *Chin Neurosurg J.* 2022 Dec 9;8(1):40.
<https://doi.org/10.1186/s41016-022-00307-y>
10. Земляной А. Б. Средство местного гемостаза – текучая активная гемостатическая матрица. *Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова.* 2019;5:104–115. <https://doi.org/10.17116/hirurgia2019051104>
11. Malone H, Yang J, Hershman DL, Wright JD, Bruce JN, Neugut AI. Complications Following Stereotactic Needle Biopsy of Intracranial Tumors. *World Neurosurg.* 2015 Oct;84(4):1084–1089. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2015.05.025>
12. Ellegala DB, Maartens NF, Laws ER. Use of FloSeal hemostatic sealant in transsphenoidal pituitary surgery: technical note. *Neurosurgery.* 2002 Aug;51(2):513–515.
13. Oz MC, Rondinone JF, Shargill NS. FloSeal Matrix: new generation topical hemostatic sealant. *J Card Surg.* 2003;18(6):486–493. <https://doi.org/10.1046/j.0886-0440.2003.00302.x>
14. Куканов К. К., Тастанбеков М. М., Сафаров Б. И., Пустовой С. В., Улитин А. Ю., Песков В. А. и др. Анализ геморрагических осложнений при стереотаксической биопсии опухолей головного мозга. *Российский нейрохирургический журнал имени профессора А. Л. Поленова.* 2019;11(4):37–46. EDN: RFTDFT
15. De Quintana-Schmidt C, Leidinger A, Teixidó JM, Bertrán GC. Application of a Thrombin-Gelatin Matrix in the Management of Intractable Hemorrhage During Stereotactic Biopsy. *World Neurosurg.* 2019 Jan;121:180–185.
<https://doi.org/10.1016/j.wneu.2018.10.053>

Информация об авторах:

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

Кузнецова Наталья Сергеевна – врач-онколог отделения нейроонкологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2337-326X>, SPIN: 8553-3081, AuthorID: 920734

Кавицкий Сергей Эммануилович – к.м.н., врач-нейрохирург консультативно-диагностического отделения, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6924-8974>, SPIN: 6437-0420, AuthorID: 734582

Матевосян Борис Варосович – врач-нейрохирург отделения нейроонкологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7612-8754>

Резник Геннадий Александрович – врач-нейрохирург отделения нейроонкологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8914-3996>

Хатюшин Владислав Евгеньевич – врач-нейрохирург отделения нейроонкологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1526-5197>, SPIN: 5719-9345, AuthorID: 1129641

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

Вклад авторов:

Росторгуев Э. Е. – идея, разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, написание текста рукописи;

Кузнецова Н. С. – набор клинического материала;

Кавицкий С. Э. – обзор публикаций по теме статьи;

Матевосян Б. В. – набор клинического материала;

Резник Г. А. – набор клинического материала;

Хатюшин В. Е. – набор клинического материала, обзор публикаций по теме статьи;

Кит О. И. – разработка дизайна исследования, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания, окончательное утверждение публикуемой версии рукописи.

Опыт создания первичных культур рака эндометрия и исследования в них клеток, обладающих фенотипом опухолевых стволовых клеток

С. Ю. Филиппова, И. В. Межевова, Т. В. Чембарова[✉], И. А. Новикова,
Е. В. Вереникина, О. Е. Женило, В. В. Половодова, А. В. Шапошников,
Е. В. Шалашная, А. А. Маслов, О. Г. Ишонина

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

✉ tanyshamova@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучить возможность применения метода сфероидообразования в культуре для оценки содержания опухолевых стволовых клеток (ОСК) рака эндометрия (РЭ) в сложных образцах, содержащих различные клетки опухоли и микроокружения.

Материалы и методы. Первичные культуры получали из фрагментов опухолей, удаленных в ходе оперативного вмешательства, проводимого в качестве первого этапа по лечению РЭ в отделении онкогинекологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. После ферментативной дезагрегации ткани клеточную суспензию пассировали в среде DMEM, содержащей 10 % фетальной бычьей сыворотки (ФБС) и 1 % гентамицина, для получения первичных двумерных культур. Для изучения способности клеток к сфероидообразованию первичную культуру снимали с культурального пластика и пассировали по $2,0 \times 10^4$ клеток на лунку 6-тилуночного планшета ($n = 6$) в среду DMEM, содержащую 0,35 % агарозы и факторы роста EGF (20 нг/мл) и FGF (20 нг/мл). Через две недели культивирования определяли средний размер, количество образующихся сфероидов и частоту сфероидообразования. Для тех культур, которые образовали сфероиды, было проведено иммунофлуоресцентное окрашивание двумерной культуры на маркер CD133, после чего определяли частоту CD133+ клеток.

Результаты. Всего было получено девять первичных культур РЭ, из которых только пять образовали сфероиды спустя две недели культивирования в условиях, не поддерживающих адгезию. В этих культурах наибольшую связь со сфероидообразованием показали небольшие полигональные CD133+ клетки, с которыми ассоциировались наиболее крупные сфероиды (98–110 мкм в диаметре).

Заключение. В смешанных культурах РЭ присутствует большое количество клеток микроокружения, из которого часть клеток может экспрессировать CD133, в том числе нормальные стволовые клетки, также образующие сфероиды в мягком агаре. Требуется более подробное изучение клеточных субпопуляций РЭ в сравнении с нормальным эндометрием для установления связи между наблюдаемым разнообразием клеток в культуре и их способностью к сфероидообразованию и другими характеристиками ОСК.

Ключевые слова: рак эндометрия, первичные культуры, опухолевые стволовые клетки, клеточные сфероиды

Для цитирования: Филиппова С. Ю., Межевова И. В., Чембарова Т. В., Новикова И. А., Вереникина Е. В., Женило О. Е., Половодова В. В., Шапошников А. В., Шалашная Е. В., Маслов А. А., Ишонина О. Г. Опыт создания первичных культур рака эндометрия и исследования в них клеток, обладающих фенотипом опухолевых стволовых клеток. Южно-Российский онкологический журнал. 2024; 5(3): 16-30.
<https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-3-2>, <https://elibrary.ru/eyiruh>

Для корреспонденции: Чембарова Татьяна Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, 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: tanyshamova@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4555-8556>
SPIN: 5426-1873, AuthorID: 1051985
ResearcherID: AAR-3198-2021
Scopus Author ID: 57221303597

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 № 25 от 08.09.2022 г.). Информированное согласие получено от всех участников исследования

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось

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

Статья поступила в редакцию 26.12.2023; одобрена после рецензирования 28.06.2024; принята к публикации 24.07.2024

© Филиппова С. Ю., Межевова И. В., Чембарова Т. В., Новикова И. А., Вереникина Е. В., Женило О. Е., Половодова В. В., Шапошников А. В., Шалашная Е. В., Маслов А. А., Ишонина О. Г., 2024

Experience in creating primary cultures of endometrial cancer and studying cells carrying phenotype of cancer stem cells

S. Yu. Filippova, I. V. Mezheva, T. V. Chembarova✉, I. A. Novikova, E. V. Verenikina, O. E. Zhenilo, V. V. Polovodova, A. V. Shaposhnikov, E. V. Shalashnaya, A. A. Maslov, O. G. Ishonina

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

ABSTRACT

Purpose of the study. Was to investigate the possibility of applying the method of spheroid formation in culture for assessment of the endometrial cancer (EC) tumor stem cells (TSC) content in complex samples containing various tumor cells and microenvironment.

Materials and methods. Primary cultures were obtained from fragments of tumors removed during surgery as a first stage of treatment at the Department of Gynecological Oncology, the National Medical Research Center for Oncology. After enzymatic disaggregation of tissue, cell suspension was passaged in DMEM medium containing 10 % fetal bovine serum and 1 % gentamicin to obtain primary two-dimensional cultures. To study the ability of cells to form spheroids, the primary culture was removed from the culture plate and passaged with 2.0×10^4 cells per well of a six-well plate ($n = 6$) in DMEM medium containing 0.35 % agarose and growth factors EGF (20 ng/ml) and FGF (20 ng/ml). After two weeks of cultivation, the average size, number of formed spheroids, and frequency of spheroid formation were determined. For those cultures that had formed spheroids, immunofluorescent staining of the two-dimensional culture for the marker CD133 was performed, after which the frequency of CD133+ cells was determined.

Results. A total of nine primary cultures of EC were obtained, five of which formed spheroids within two weeks of cultivation under non-adhesive conditions. In these cultures, small polygonal CD133+ cells showed the strongest association with spheroid formation, which were associated with the largest spheroids (98–110 μm in diameter).

Conclusion. There is a large number of microenvironmental cells in mixed cultures of CSC, some of which may express CD133, including healthy stem cells that also form spheroids in soft agar. A more detailed study of CSC subpopulations compared to normal endometrium is required to establish a link between the observed diversity of cells in culture and their ability to form spheroids and other characteristics of tumor stem cells.

Keywords: endometrial cancer, primary cell cultures, cancer stem cells, cell spheroids

For citation: Filippova S. Yu., Mezheva I. V., Chembarova T. V., Novikova I. A., Verenikina E. V., Zhenilo O. E., Polovodova V. V., Shaposhnikov A. V., Shalashnaya E. V., Maslov A. A., Ishonina O. G. Experience in creating primary cultures of endometrial cancer and studying cells carrying phenotype of cancer stem cells. South Russian Journal of Cancer. 2024; 5(3): 16-30. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-3-2>, <https://elibrary.ru/eyiruh>

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

Compliance with ethical standards: the work followed the ethical principles set forth by World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ed. 2013. The study was approved by the Committee on Biomedical Ethics at the National Medical Research Centre for Oncology (extract from the minutes of the meeting No. 25 dated 09/08/2022). Informed consent has been obtained from all participants of the study

Funding: this work was not funded

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

The article was submitted 26.12.2023; approved after reviewing 28.06.2024; accepted for publication 24.07.2024

ВВЕДЕНИЕ

Рак эндометрия (РЭ) является шестым по распространенности видом рака у женщин. За последние 30 лет общая заболеваемость РЭ выросла на 132 %, что отражает увеличение распространенности факторов риска, в частности, ожирения и старения населения [1]. В России РЭ занимает 2-е ранговое место в структуре онкологических заболеваний женских половых органов. Общее количество пациенток с РЭ достигло показателя 195,6 на 100 тыс. населения в 2022 г., что на 31,8 % больше, чем в 2012 г. [2]. Таким образом, по-прежнему существует необходимость в разработке новых терапевтических подходов для значительного улучшения прогноза у женщин с рецидивирующим РЭ или на поздних стадиях заболевания. В этом контексте опухолевые стволовые клетки (ОСК) рака эндометрия, способные к самообновлению и дифференцировке в зрелые опухолевые клетки, а также способствующие рецидивированию опухолей, их метастазированию, гетерогенности, множественной лекарственной и радиационной устойчивости, представляют собой потенциальную мишень для разработки лекарственных препаратов [3].

ОСК впервые были идентифицированы у пациентов с острым миелоидным лейкозом в 1994 г. и с тех пор считаются потенциальными терапевтическими мишенями в лечении онкологических заболеваний, в том числе солидных опухолей [4]. Впервые ОСК в РЭ были описаны Hubbard в 2009 г. [5]. Открытие эндометриальных ОСК радикально изменило взгляды на изучение биологии РЭ и разработку подходов к лечению этого заболевания. Как правило, ОСК РЭ идентифицируют по экспрессии специфических антигенов, по признаку слабого накопления ядерного красителя Hoechst 33342 (так называемая *side population* – «побочная популяция»), по способности образовывать колонии в условиях пониженной адгезии и инициировать рост опухоли, содержащей ОСК и происходящие от них дифференцированные клетки с тем же фенотипом, что и «родительские», у мышей с иммунодефицитом [3].

В РЭ был исследован целый ряд маркеров, ассоциированных с ОСК солидных опухолей. Альдегиддегидрогеназа 1 (Aldehyde dehydrogenase 1, ALDH1) является одним из 19 различных ферментов, участвующих в окислении альдегида. Этот фермент проявляет высокую активность на ранних стадиях

дифференцировки стволовых клеток. Атипичные клетки РЭ, имеющие высокий уровень экспрессии ALDH1, более туморогенны, инвазивны и устойчивы к цисплатину, чем клетки с низким уровнем экспрессии ALDH1. Также высокий уровень экспрессии ALDH1 коррелирует с худшим прогнозом у пациентов с РЭ [6]. Рецепторная тирозинкиназа c-Kit или CD117 является рецептором фактора стволовых клеток (Stem Cell Factor, SCF) и при активации запускает ряд внутриклеточных сигнальных каскадов, регулирующих выживание, миграцию и пролиферацию клеток, в том числе ОСК [7]. При исследовании клеточного состава РЭ было показано, что CD117⁺ клетки, выделенные из культур РЭ Ishikawa и MFE280, проявляют большую пролиферативную способность, а также способность к образованию колоний в мягком агаре в присутствии SCF. Высокий уровень экспрессии CD117 также был признан независимым прогностическим фактором, коррелирующим с прогрессированием РЭ [8]. Антиген CD55 представляет собой фактор ускорения распада комплемента и экспрессируется на высоком уровне в ОСК эндометриоидного рака яичников и РЭ. Было показано, что CD55⁺ клетки способны регулировать самообновление клеток и их резистентность к цисплатину в большей степени, чем CD55⁻ клетки [9]. Связь с ОСК была также установлена для трансмембранного гликопротеина CD44, играющего роль молекулы адгезии. Клетки, сверхэкспрессирующие CD44, обладают такими характеристиками ОСК, как способность к самообновлению и эпителиально-мезенхимальному переходу (ЭМП), а также устойчивость к химио- и лучевой терапии [10]. Вероятно, к ОСК РЭ этот маркер также имеет отношение, так как онкосферы, получаемые на мягком агаре от клеток культур РЭ со свойствами стволовых, являются CD44 положительными [3]. Кроме того, в ряде работ отмечается совместная экспрессия CD44 и другого маркера ОСК CD133 в ткани РЭ [11, 12]. Трансмембранный гликопротеин клеточной поверхности промиллин-1 или CD133 привлек значительное внимание из-за того, что его экспрессия часто наблюдается в различных субпопуляциях соматических стволовых клеток. Обычно данный гликопротеин наблюдают в области различных микроворсинок и выпячиваний плазматической мембраны, где CD133 может действовать как регулятор липидного состава мембран или участвовать в механизмах клеточной полярности и миграции [13]. В исследовании Rutella

и соавт. (2009) субпопуляции клеток с фенотипом CD133⁺/CD44⁺, выделенные из постоянных клеточных линий рака эндометрия, проявили способность к формированию опухолевых сфер, повышенную химиорезистентность и были способны инициировать образование опухоли с тем же фенотипом, что и у исходной опухоли, при трансплантации иммунодефицитным мышам [14]. В работе Gao (2012) также исследовали линию AN 3CA и показали, что клетки CD133⁺ экспрессируют маркеры стволовости, демонстрируют большую подвижность и инвазионную способность, чем CD133⁻ клетки [15]. В работе Friel исследовали экспрессию CD133 в клетках первичных опухолей РЭ и механизм контроля экспрессии данного маркера в них [16]. Авторы показали, что CD133⁺ клетки составляли 5,7–27,4 % от общей популяции опухолевых клеток в проанализированных первичных опухолях. Эти клетки обладали повышенной туморогенностью в иммунодефицитных мышах, что говорит в пользу того, что эти клетки относятся к ОСК. Сходные результаты были получены в работе Sun (2017), где для CD133⁺CD44⁺ клеток была показана более сильная связь со всеми классическими свойствами ОСК, чем для других исследованных в работе маркеров, таких как CD24, CD47, CD29, CXCR4, SSEA3 и SSEA4. Эффективность образования сфероидов в мягком агаре составила 11,7 % для CD133⁺ клеток и 1,7 % для CD133⁻ клеток [17]. Кроме того, в клетках CD133⁺CD44⁺ была отмечена повышенная по сравнению с другими субпопуляциями экспрессия факторов транскрипции стволовых клеток Мус, Sox-2, Nanog и Oct4 [16], для которых установлена прямая связь со степенью злокачественности эндометриоидной карциномы [18].

Несмотря на установленную в целом ряде исследований связь между CD133 и ОСК РЭ, данные о связи экспрессии этого маркера с прогнозом течения заболевания остаются противоречивыми. Так, в работе Elbasateeny (2016) указывают на более выраженную связь экспрессии CD133 с ранней стадией опухоли (I–II) и на снижение экспрессии данного маркера на более поздних стадиях заболевания. Авторы предположили, что CD44 и CD133 могут участвовать в развитии рака эндометрия на ранних стадиях, а их сверхэкспрессия может способствовать ранней диагностике рака эндометрия [11]. Поддерживают эти результаты и данные, полученные в работе Mansebo (2017), в которой авторы установили, что опухоли, в которых экспрессия CD133

была высокой, с меньшей вероятностью имели сосудистую инвазию и с большей вероятностью были высоко дифференцированными, а также были ассоциированы с более высокой общей и безрецидивной выживаемостью [19]. Тем не менее, имеются и противоположные данные. Так, в работе Nakamura (2010) показали отрицательную корреляцию между экспрессией CD133 в ткани опухоли и продолжительностью жизни без рецидива [20]. Негативный прогноз течения РЭ при повышенной экспрессии CD133 в ткани опухоли был подтвержден и в работе Park в 2019 г. [12]. Наблюдаемые расхождения в данных разных авторов могут быть связаны с тем, что экспрессия CD133 наблюдается не только в ОСК РЭ, но и в нормальных клетках железистого эпителия эндометрия [21]. Таким образом, CD133 в ткани эндометрия может выступать одновременно как маркер эпителиальной дифференцировки и как маркер ОСК.

Чтобы изучать динамику, функционирование и регуляцию стволовых клеток, необходимы экспериментальные методы, позволяющие четко различать стволовые клетки и их потомство. Из-за отсутствия уникальных маркеров клеточной поверхности, характерных только для стволовых клеток, и отчетливого морфологического фенотипа стволовые клетки обычно идентифицируют на основе функциональных критериев. Стволовые клетки из различных тканей обычно культивируют *in vitro* в виде сфероидов в условиях, исключающих адгезию [22]. По литературным данным, исследование ОСК в РЭ осуществляется методом подсчета сфероидов в условиях, не поддерживающих клеточную адгезию, как на простых образцах, полученных после сортировки по какому-либо маркеру [14, 17], так и в цельных образцах первичной культуры РЭ [23]. В последнем случае количественный анализ сводился к измерению размеров сфероидов, оценка же количественного содержания ОСК и установление связи с клинико-патологическими характеристиками образца не проводилась.

Цель исследования: изучить возможность применения метода сфероидообразования в культуре для оценки содержания ОСК РЭ в сложных образцах, содержащих различные клетки опухоли и микроокружения. Для достижения поставленной цели мы сравнили морфологические характеристики первичных культур РЭ в условиях адгезионного роста и в мягком агаре, а также изучили экспрессию маркера CD133 в двумерных культурах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Девять первичных культур РЭ было получено из фрагментов опухолей, удаленных в ходе оперативного вмешательства, проводимого в качестве первого этапа по лечению РЭ. Больные РЭ проходили лечение в отделении онкогинекологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации в 2023 г. Гистологический диагноз подтверждали в патологоанатомическом отделении ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Пациенты были осведомлены об участии в научном исследовании и подписывали информированное согласие на сбор биологического материала. Патологоанатомом в течение 20 минут после извлечения препарата выделялся фрагмент 0,5 см³, соответствующий злокачественному компоненту опухоли, и помещался в раствор Хэнкса (Gibco, США), содержащий 1 % гентамицина (Биолот, Россия). Далее образец фрагментировали скальпелем до размера 1–2 мм³, после чего добавляли 300 ед/мл коллагеназы I (Thermo Fisher Scientific, США) в среде DMEM (Биолот, Россия) и инкубировали в течение часа при температуре 37 °C при постоянном перемешивании. По окончании ферментации образец дополнительно измельчали пипетированием и пропускали через стерильный нейлоновый фильтр (d = 70 мкм) (Beckton Dickinson, США). Полученную суспензию дважды отмывали в фосфатном буфере и пассировали на культуральный флакон в среде DMEM, содержащей 10 % фетальной бычьей сыворотки (ФБС) (Биолот, Россия) и 1 % гентамицина и культивировали в стандартных условиях при 37 °C и 5,0 % CO₂.

Для изучения способности клеток к сфероидообразованию двумерную культуру снимали с культурального пластика по стандартной методике при помощи 0,1 % раствора трипсина (Биолот, Россия). Полученную суспензию клеток смешивали с 0,35 % раствором агарозы в среде DMEM без сыворотки с добавлением инсулина-трансферина и факторов роста EGF (20 нг/мл) и FGF (20 нг/мл) и наслаивали на основу из 0,7 % агарозы в такой же среде. Всего таким способом вносили по $2,0 \times 10^4$ клеток на лунку 6-луночного планшета. Для каждой культуры было заложено по 6 повторов. Планшеты с клет-

ками культивировали 2 недели, в течение этого времени проводили фотографирование сфероидов. По окончании культивирования проводили определение среднего размера и подсчет сфероидов в лунке на имиджере Lionheart FX (BioTek, США) с использованием встроенного программного обеспечения. Частоту сфероидообразования подсчитывали как отношение количества сфероидов размером более 40 мкм в диаметре к общему количеству клеток, пассированных в лунку планшета.

Для проведения иммунофенотипирования на CD133 первичные культуры высаживали на покровные стёкла. После образования клеточного монослоя стёкла фиксировали в 4 % растворе параформальдегида в течение 15 минут при комнатной температуре, после чего проводили пермеабиллизацию в 0,5 % растворе Triton X-100 на фосфатном буфере в течение 10 минут. После отмывки стёкла блокировали в течение часа в растворе 5 % нормальной сыворотки козы (Gibco, США) в фосфатном буфере, после чего выдерживали ночь при 4 °C в растворе первичного поликлонального кроличьего антитела к CD133 (ab19898, Abcam, США) в фосфатном буфере (разведение 1/100) с добавлением 1 % сыворотки козы. После трехкратной отмывки стёкла в течение часа выдерживали при комнатной температуре в растворе вторичного козьего антитела, конъюгированного с Alexa Flour®594 (ab150080, Abcam, США) (разведение 1/500), после чего отмывали фосфатным буфером, доокрашивали в растворе ядерного красителя DAPI (ab228549, Abcam, США) и монтировали на предметные стёкла в среде Anti-Fade Fluorescence Mounting Medium (ab104135, Abcam, США). Долю CD133 положительных клеток определяли на имиджере Lionheart FX (BioTek, США) с использованием встроенного программного обеспечения. Для каждой культуры было исследовано по 3 стекла.

Значения диаметра сфероидов, частоты сфероидообразования и доли CD133⁺ клеток приведены как выборочное среднее $\pm$ стандартное отклонение.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами было получено 9 первичных культур РЭ от 9 пациенток, проходивших лечение в отделении онкогинекологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации в 2023 г. Результаты патологоанатомического ис-

следования показали, что 2 опухоли принадлежали к гистологическому типу высокодифференцированных (G1), 6 – к умеренно дифференцированным (G2) и одна опухоль – к низкодифференцированному типу G3 эндометриоидных аденокарцином. При этом в трех случаях была выявлена лимфоваскулярная инвазия, однако ни у одной из пациенток не было обнаружено метастазов в регионарных лимфоузлах. Все случаи были отнесены к I-II стадии заболевания.

Все первичные клеточные культуры на 3 день культивирования в условиях, поддерживающих адгезию, образовывали монослой. Клетки РЭ в монослойной культуре имели относительно небольшие размеры и полигональную форму, часто образовывали «острова» и «розетки», которые располагались среди клеток стромы более вытянутой формы, предположительно, фибробласты. При культиви-

ровании в условиях, не поддерживающих адгезию клеток, на агарозе в среде для ОСК в 5 из 9 культур, начиная с 5-х суток культивирования, отмечалось формирование сфероидов. В 4 других культурах сфероиды не образовались даже спустя 2 недели культивирования. Не образовали сфероиды одна культура, полученная из высокодифференцированной опухоли, и 3 культуры – из умеренно дифференцированных опухолей. Таким образом, не наблюдалось явной связи частоты сфероидообразования со степенью дифференцировки опухоли. Для культур, которые образовали сфероиды в мягком агаре, было проведено дополнительное окрашивание двумерной культуры на маркер CD133.

Культура РЭ № 1. Высокодифференцированная эндометриоидная аденокарцинома G1 без признаков сосудистой инвазии. В первичной культуре наблюдались единичные крупные клетки полиго-

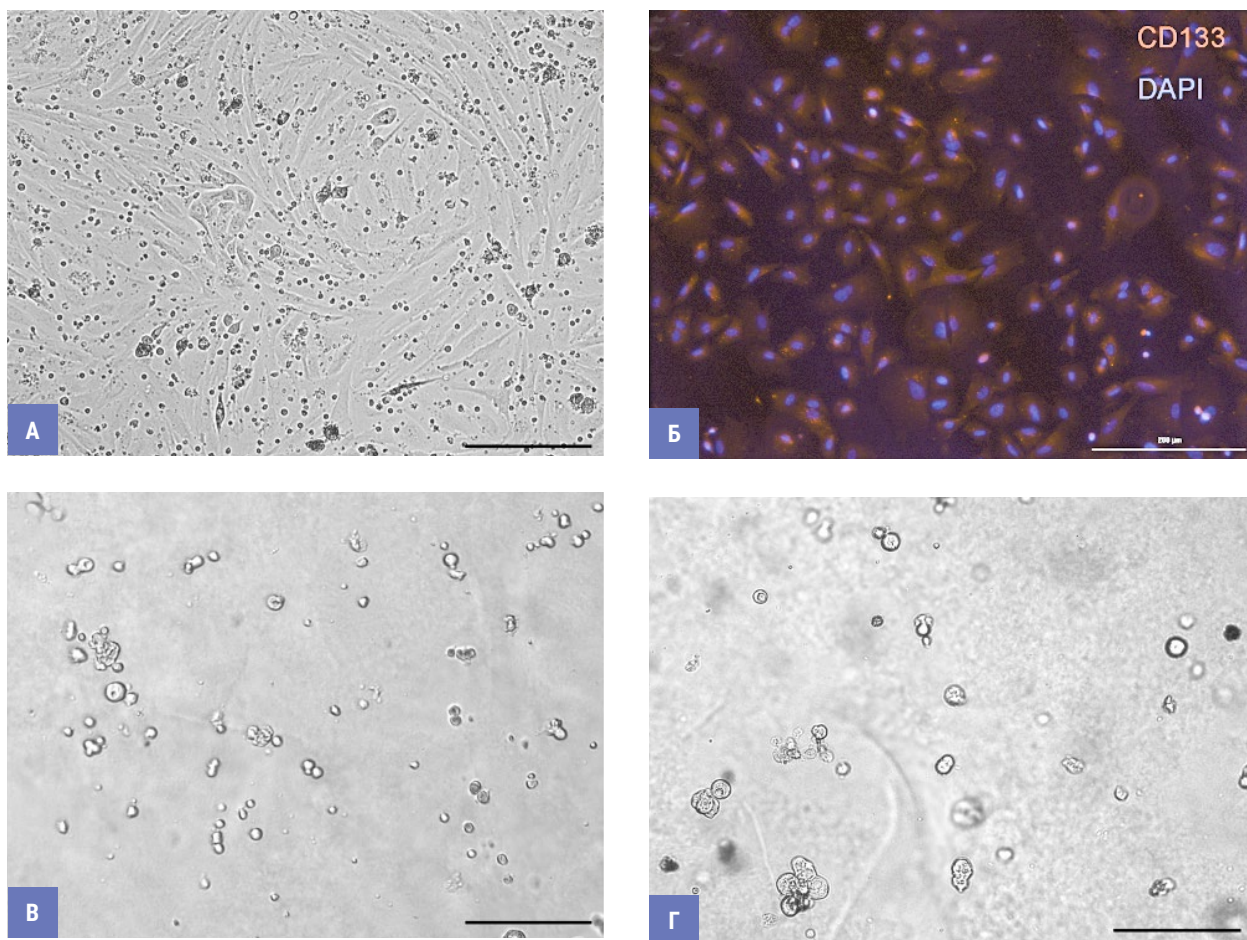


Рис. 1. Первичная культура рака эндометрия № 1. А – общий вид монослойной культуры; Б – окрашивание монослойной культуры на CD133; В – вид клеточных сфероидов в агарозе на 5-е сутки культивирования; Г – вид клеточных сфероидов в агарозе на 14-е сутки культивирования. Размер масштабной линейки 200 мкм

нальной или округлой формы среди многочисленных вытянутых клеток, предположительно, фибробластов (рис. 1А).

Экспрессия CD133 слабая, наблюдаются редкие гранулы маркера во всех клетках (рис. 1Б). Частота CD133⁺ клеток составила от 0,2 до 1,0 % ($0,8 \pm 0,15$ %). В культуре в агарозе наблюдался очень медленный рост клеточных сфероидов из единичных крупных клеток. На пятый день культивирования сфероиды еще не обнаруживались (рис. 1В), а через две недели образовались небольшие сфероиды из 4–8 клеток (рис. 1Г). Частота сфероидообразования на 14-е сутки составила от 0,1 до 0,7 % ($0,5 \pm 0,1$ %).

Культура РЭ № 2. Низкодифференцированная эндометриоидная аденокарцинома G3 без признаков сосудистой инвазии. В условиях культивирования, поддерживающих клеточную адгезию, клетки первичной

культуры образовали монослой из двух типов клеток, по своему внешнему виду похожий на культуру РЭ № 3 (рис. 3А): мелкие полигональные клетки, объединенные в островки среди более крупных и вытянутых клеток, похожих на фибробласты (рис. 2А).

При этом островки полигональных клеток могли образовывать сфероидоподобные структуры, внутри которых наблюдалась повышенная экспрессия CD133. Также среди монослоя встречались отдельные крупные клетки, экспрессирующие CD133 выше общего уровня (рис. 2Б). Частота CD133⁺ клеток составила от 2,7 до 8,0 % ($4,8 \pm 1,5$ %). На пятый день культивирования в условиях, не поддерживающих адгезию, в среде для ОСК культура РЭ № 3 образовывала небольшие клеточные сфероиды из 4–8 клеток с частотой примерно 15 % (рис. 2В). Далее часть из клеточных сфероидов продемонстрировала быстрый рост и спустя две

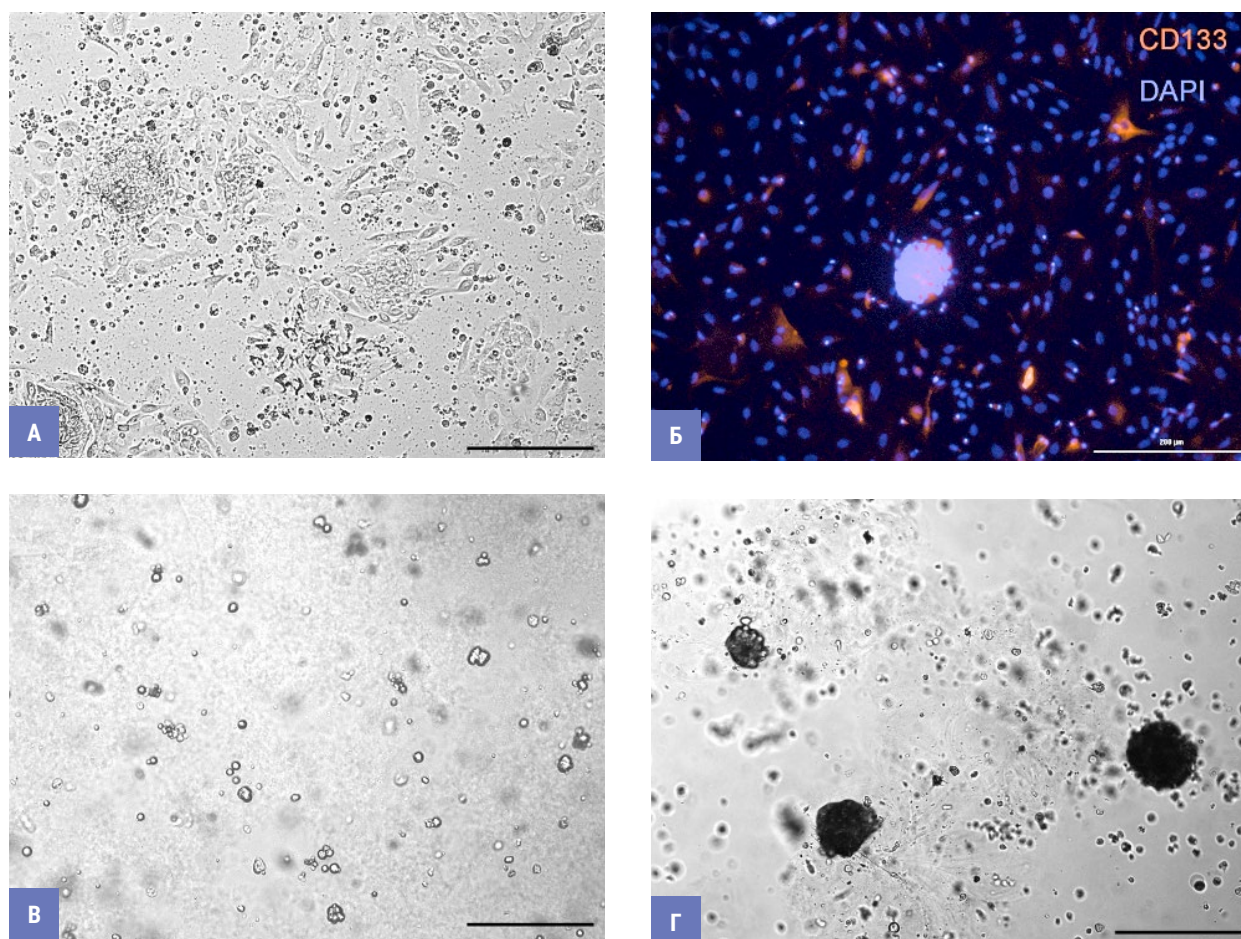


Рис. 2. Первичная культура рака эндометрия № 2. А – общий вид монослойной культуры; Б – окрашивание монослойной культуры на CD133; В – вид клеточных сфероидов в агарозе на 5-е сутки культивирования; Г – вид клеточных сфероидов в агарозе на 14-е сутки культивирования. Размер масштабной линейки 200 мкм

недели культивирования достигла 80–150 мкм в диаметре ($110,3 \pm 32,7$ мкм). Частота сфероидообразования на 14-е сутки составила от 0,3 до 2,5 % ($1,5 \pm 0,8$ %) (рис. 2Г).

Культура РЭ № 3. Умеренно дифференцированная эндометриоидная аденокарцинома G2 с признаками сосудистой инвазии. Культура в монослое имела выраженное деление на мелкие полигональные клетки, объединенные в островки среди более крупных и вытянутых клеток, похожих на фибробласты (рис. 3А).

Иммунофлуоресцентное окрашивание показало повышенное содержание маркера CD133 именно в мелких полигональных клетках, при этом отдельные клетки показывали особенно яркую метку (рис. 3Б). Частота CD133⁺ клеток составила от 5,8 до 16,9 % ($11,2 \pm 5,2$ %). При выращивании на агарозе в среде для ОСК на 5-й день в культуре около 15 %

клеток образовали сфероиды 5–30 мкм в диаметре (рис. 3В). Спустя две недели культивирования в агарозе отдельные клеточные сфероиды увеличились в размерах до 30–150 мкм в диаметре, остальные сфероиды деградировали ($98,3 \pm 51,4$ мкм). Частота сфероидообразования на 14-е сутки составила от 0,3 до 10,1 % ($5,7 \pm 4,1$ %) (рис. 3Г).

Культура РЭ № 4. Умеренно дифференцированная эндометриоидная аденокарцинома G2 без признаков сосудистой инвазии. В монослойной культуре наблюдались отдельные или собранные в небольшие группы крупные полигональные клетки на фоне вытянутых клеток различных размеров (рис. 4А).

При окрашивании на маркер ОСК РЭ CD133 положительную реакцию показали не только крупные полигональные клетки и их скопления, но и многочисленные мелкие вытянутые клетки. Также в препарате обнаруживались положительные на CD133

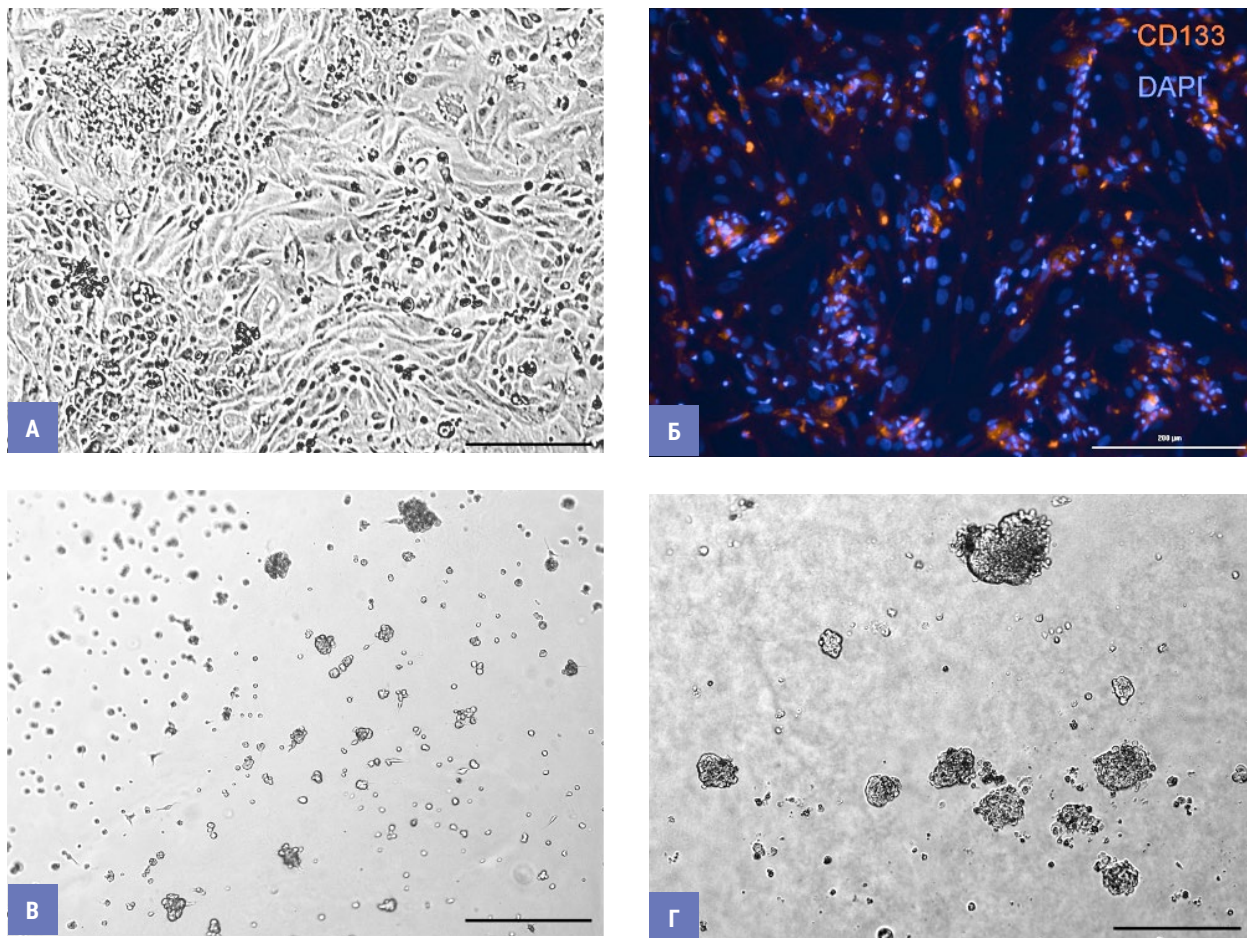


Рис. 3. Первичная культура рака эндометрия №3. А – общий вид монослойной культуры; Б – окрашивание монослойной культуры на CD133; В – вид клеточных сфероидов в агарозе на 5-е сутки культивирования; Г – вид клеточных сфероидов в агарозе на 14-е сутки культивирования. Размер масштабной линейки 200 мкм

крупные многоядерные клетки (рис. 4Б). Частота CD133⁺ клеток составила от 40,1 до 65,2 % (среднее $52,2 \pm 10,2$ %). Спустя пять суток культивирования в агарозе примерно 5–10 % клеток культуры образовали небольшие рыхлые сфероиды из 4–16 клеток (рис. 4В), через две недели сфероиды увеличились до 20–80 мкм в диаметре ($54,7 \pm 28,4$ мкм), частота сфероидообразования на 14-е сутки составила от 2,1 до 8,4 % ($5,1 \pm 2,7$ %) (рис. 4Г).

Культура РЭ № 5. Умеренно дифференцированная эндометриоидная аденокарцинома G2 без признаков сосудистой инвазии. В монослойной культуре среди вытянутых клеток стромального происхождения встречались островки довольно крупных полигональных клеток эпителиальной морфологии (рис. 5А).

Реакция на CD133 была схожа с культурой РЭ № 2, а именно, положительное окрашивание

демонстрировали отдельные крупные клетки вытянутой или эпителиальной морфологии с определенной группой мелких вытянутых клеток, которые благодаря окрашиванию выделяются на фоне более крупных вытянутых клеток, отрицательных по CD133 (рис. 5Б). Частота CD133⁺ клеток составила от 22,4 до 51,2 % ($35,5 \pm 12,7$ %). На пятый день культивирования в условиях, не поддерживающих адгезию, культура РЭ № 5 образовывала небольшие клеточные сфероиды из 2–4 клеток с частотой, примерно, 5 % (рис. 5В). Далее часть из клеточных сфероидов продемонстрировала быстрый рост и достигла 30–80 мкм в диаметре спустя две недели культивирования (среднее $55,4 \pm 25,1$ мкм). Частота сфероидообразования на 14-е сутки составила от 0,5 до 2,8 % ($1,8 \pm 0,9$ %) (рис. 5Г).

Характеристики первичных культур РЭ объединены в таблице (табл. 1).

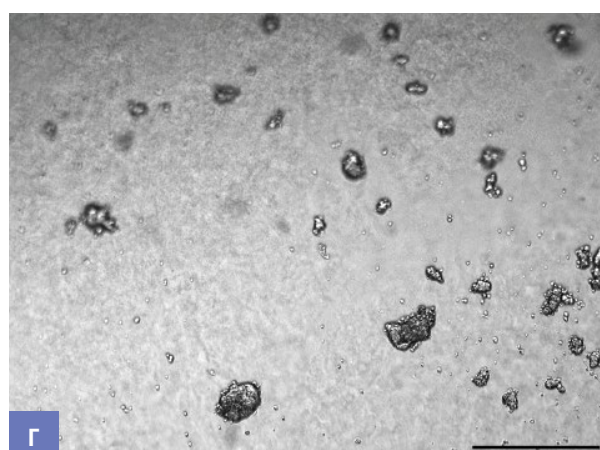
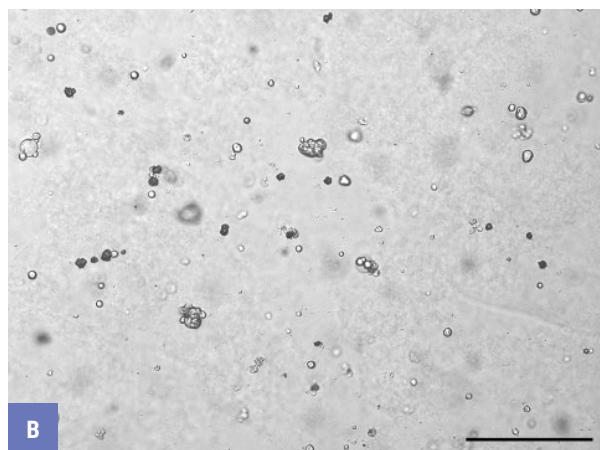
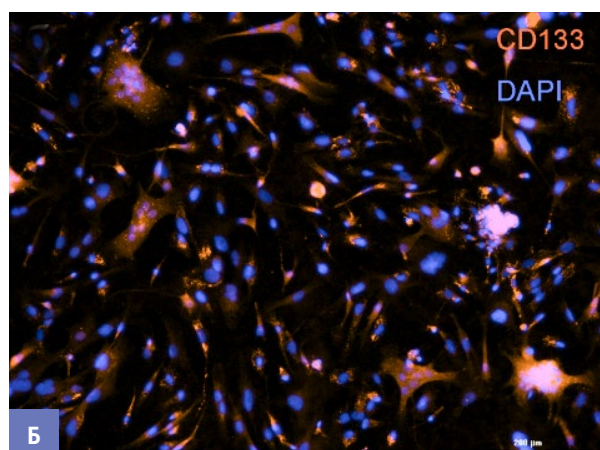
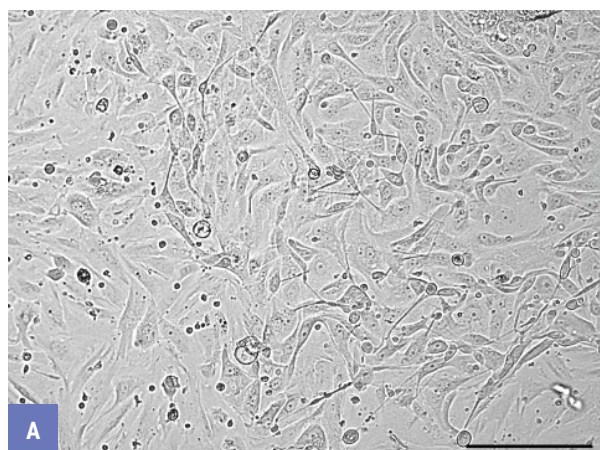


Рис. 4. Первичная культура рака эндометрия № 4. А – общий вид монослойной культуры; Б – окрашивание монослойной культуры на CD133; В – вид клеточных сфероидов в агарозе на 5-е сутки культивирования; Г – вид клеточных сфероидов в агарозе на 14-е сутки культивирования. Размер масштабной линейки 200 мкм

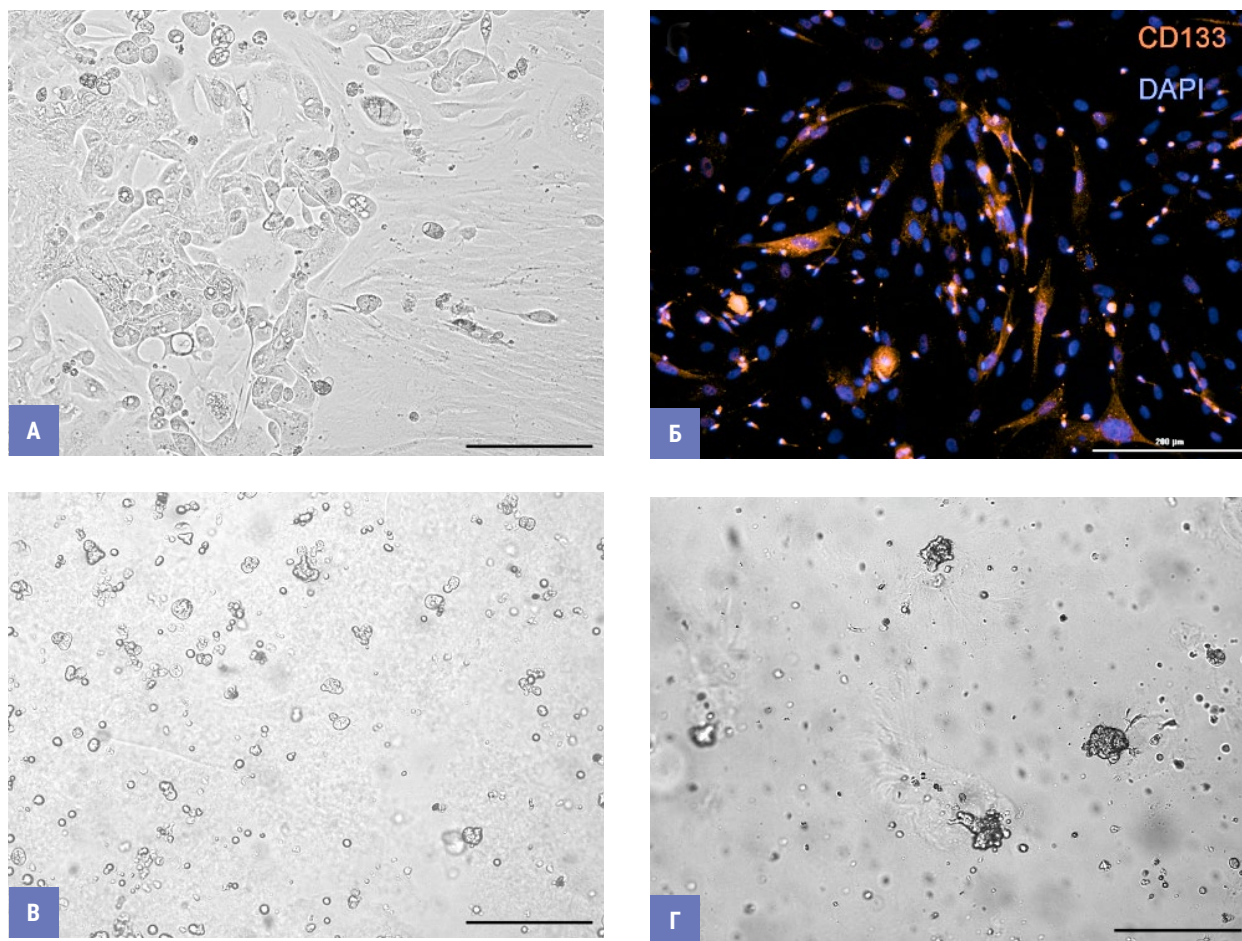


Рис. 5. Первичная культура рака эндометрия № 5. А – общий вид монослойной культуры; Б – окрашивание монослойной культуры на CD133; В – вид клеточных сфероидов в агарозе на 5-е сутки культивирования; Г – вид клеточных сфероидов в агарозе на 14-е сутки культивирования. Размер масштабной линейки 200 мкм

Таблица 1. Сводная характеристика первичных культур рака эндометрия

№ культуры	Степень дифф-ки	Лимфо-васк. инвазия	Реакция на CD133, доля CD133 ⁺ клеток, среднее $\pm$ SD %	Частота сфероидов ≥ 40 мкм на 14 сут, среднее $\pm$ SD, %	Диаметр сфероидов на 14 сут, среднее $\pm$ SD, мкм
№ 1	G1	нет	0,8 $\pm$ 0,15 %, слабая реакция в некоторых крупных стромальных клетках, единичные полигональные клетки с яркой окраской	0,5 $\pm$ 0,1	20 $\pm$ 10
№ 2	G3	нет	4,8 $\pm$ 1,5 %, мелкие полигональные клетки в плотных колониях, отдельные стромальные клетки	1,5 $\pm$ 0,8 %	110,3 $\pm$ 32,7
№ 3	G2	есть	11,2 $\pm$ 5,2 %, мелкие полигональные клетки в плотных колониях	5,7 $\pm$ 4,1 %	98,3 $\pm$ 51,4
№ 4	G2	нет	52,2 $\pm$ 10,2 %, полигональные отростчатые крупные многоядерные клетки, стромальные мелкие вытянутые клетки	5,1 $\pm$ 2,7 %	54,7 $\pm$ 28,4
№ 5	G2	нет	35,5 $\pm$ 12,7 %, отдельные крупные и мелкие стромальные клетки вытянутой формы, отдельные крупные полигональные клетки	1,8 $\pm$ 0,9 %	55,4 $\pm$ 25,1

Наименьшая частота сфероидообразования, как и наименьшая частота CD133⁺ клеток, наблюдались в культуре, полученной из высокодифференцированной опухоли.

ОБСУЖДЕНИЕ

Во всех полученных первичных культурах отмечается присутствие стромального компонента, представленного вытянутыми клетками разных размеров, демонстрирующими от отрицательной (№ 1, № 2, № 3) до средней и высокой экспрессии CD133 (№ 4, № 5). Кроме того, в культурах отмечаются клетки полигональной формы, которые встречаются в виде островков среди стромальных клеток. Их размеры различаются между культурами, и по этому признаку культуры можно разделить на две группы – включающие мелкие полигональные клетки, которые собираются в плотные колонии-«купола» (культуры № 1 и № 2), и включающие более крупные полигональные клетки, которые могут образовать плоские острова разных размеров (культуры № 1, № 4 и № 5). Экспрессия маркера CD133 в этих клетках достаточно выражена, особенно на фоне слабо окрашенного стромального компонента, состоящего из крупных клеток (культуры № 4 и № 5).

Наличие в первичных культурах РЭ клеток вытянутой или отростчатой формы, напоминающих фибробласты и способных образовывать сфероиды в условиях, не поддерживающих клеточную адгезию, отмечалось также в работе Helweg (2022) [23]. Полученная нами картина состава клеточных культур по морфологии клеток похожа также на результаты, полученные в работе Chan и соавт. (2004) [24]. В данном исследовании авторы изучили поведение в культуре различных клеток нормального эндометрия человека, выделенных из эпителиального и базального слоев [24]. По данным авторов, эпителиальный слой давал две группы полигональных клеток – мелкие, собирающиеся в тесные колонии клетки с высокой способностью к пролиферации, и более крупные клетки, образующие более рыхлые колонии на культуральном пластике. Стромальный компонент ткани эндометрия состоял из двух типов вытянутых клеток: крупные неплотно лежащие клетки и мелкие тесно лежащие, дающие завитки в монослое, клетки. Стромальные клетки эндометрия человека, кроме того, положительно окрашивались на маркеры фибробластов (CD90, 5B5, коллаген типа I), что подтверждает родство этих клеток

с фибробластами и, возможно, миофибробластами, которые экспрессируют маркеры как фибробластов, так и гладкомышечных клеток. Таким образом, по картине двумерной культуры, полученной в нашей работе, невозможно однозначно выделить, какие клетки относятся к ОСК, так как внешне они мало отличимы от нормальных клеток эндометрия.

Экспрессия маркера ОСК CD133 в полученных нами культурах составила от 0,8 до 52,2 % в среднем. Полученные данные выходят за диапазон 5,7–27,4 %, который указывают другие авторы [16, 17]. Также выявлена нелинейная связь экспрессии CD133 и степени дифференцировки опухоли – как высокая, так и низкая дифференцировка ассоциировались сниженной по сравнению со средней дифференцировкой иммунореактивностью на CD133. Не было установлено какой-либо связи между уровнем экспрессии CD133, степенью дифференцировки и другими клинико-патологическими характеристиками опухоли также в работе Nakamura [20]. Известно, что CD133 встречается в нормальных дифференцированных клетках эндометрия. Таким образом, на основании существующих данных нельзя определить, в какой мере экспрессия CD133 отражает степень злокачественности клеток в первичных культурах РЭ и уровень их дифференцировки. Для решения этой проблемы требуются более масштабные исследования, включающие сравнение нормальной ткани эндометрия и РЭ.

Частота сфероидообразования в наших культурах составила от 0,5 до 5,7 % в среднем. Известно, что частота клеток, обладающих свойствами СК, в нормальном эндометрии составляет 0,02–0,1 % [24]. Не будет слишком большим допущением принять эти уровни как ориентировочные для оценки частоты сфероидообразования в культурах нормального эндометрия. В научной литературе нами не было обнаружено данных о частоте образования сфероидов в условиях, не поддерживающих клеточную адгезию, в цельных культурах РЭ, так как обычно объектом исследования становятся отдельные субпопуляции, очищенные по признаку экспрессии маркера или удержания ядерного красителя. Однако, принимая во внимание тот факт, что частота сфероидообразования является наибольшей среди CD133⁺ клеток РЭ и составляет в этой субпопуляции 11,7 % [17], а также то, что общее содержание этих клеток в РЭ колеблется в пределах от 5,7 до 27,4 % [16], мы можем путем перемножения этих показателей получить примерную частоту сферо-

идообразования в смешанной культуре РЭ, которая составит в этом случае 0,7–3,2 %. Таким образом, полученные нами результаты лежат в диапазоне, соответствующем известным данным по РЭ, следовательно, основная часть сфероидов в наших культурах предположительно образована именно злокачественными клетками с фенотипом ОСК.

Наши данные показывают, что в культурах РЭ общая реакция на CD133 не демонстрирует явной связи с частотой сфероидообразования. Так, в культурах № 4 и № 5 частота сфероидообразования на порядок меньше, чем содержание CD133⁺ клеток. В связи с этим возникает вопрос о том, какие клетки являются источниками сфероидов в культурах РЭ? Сопоставление с морфологическими особенностями и фенотипом нормального эндометрия [21, 24, 25], указывает на ряд закономерностей. Так, в культуре № 1, полученной из высокодифференцированной опухоли, в монослое мы видим крупные клетки, похожие на ограниченно делящиеся клетки-предшественники стромального и эпителиального компонентов нормального эндометрия [24]. Экспрессия маркера CD133 в этих клетках очень слабая, при этом данная культура с частотой менее 1 % образовывала на мягком агаре небольшие лимфоидные (рыхлые) сфероиды. Лимфоидные колонии в условиях, не поддерживающих адгезию, могут образовывать иммунные клетки, а именно, Т-лимфоциты и НК в присутствии специфических цитокинов, таких как ИЛ-2, ИЛ-15 или ИЛ-7 [26]. Надежным отличием лимфоцитов от других клеток, тем не менее, можно считать их характерный внешний вид – даже в стимулированном состоянии это некрупные клетки (6–15 мкм) с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением [27]. В нашем случае клетки в колониях имеют более крупные размеры (около 40 мкм в диаметре), а значит, с высокой вероятностью не являются лимфоцитами. Вместе с тем, сфероиды культуры № 1 похожи на лимфоидные колонии, которые получили из ткани РЭ в работе Tabuchi [28]. В культуре № 2, полученной из низкодифференцированной опухоли (G3), также содержатся CD133⁺ фибробластоподобные клетки, однако на их фоне хорошо выделяется субпопуляция мелких полигональных клеток, демонстрирующих яркую иммунореактивность на CD133, которая по морфологии больше всего похожа на клетки, обладающие свойствами стволовых, в работе Chan и соавт. [24]. Также в этой культуре при выращивании на мягком агаре на-

блюдались крупные (около 90 мкм в диаметре) сфероиды, хоть и с небольшой частотой (около 1,5 %). Несмотря на то, что специальной селекции по маркеру не проводилось, небольшим допущением будет принять, что именно эти CD133⁺ клетки образуют сфероиды, коль скоро крупные фибробластоподобные CD133⁺ клетки не давали похожих крупных сфероидов в культуре № 1. Подтверждением этого предположения может быть и тот факт, что культура № 3, по фенотипу похожая на культуру № 2, с четко выделяющейся на фоне слабо окрашенного стромального компонента субпопуляцией мелких образующих плотные колонии CD133⁺ клеток, также образовывала крупные (около 115 мкм в диаметре) сфероиды в мягком агаре с частотой около 10 %. Еще одним источником сфероидов могут быть мелкие ярко окрашенные на CD133 веретеновидные клетки, обнаруженные в культурах № 5 и № 4. Морфологические особенности этих клеток соответствует тканевым стволовым клеткам, из которых CD133 экспрессируют, например, эпителиальные или эндотелиальные СК, которые в норме присутствуют в эндометрии [30, 31]. Согласно литературным данным, размеры и внешний вид колоний, образуемых на мягком агаре такими нормальными стволовыми клетками, не отличаются от сфероидов, полученных из ОСК [31]. Наконец, для субпопуляции относительно крупных полигональных CD133⁺ клеток, которые присутствуют в культурах № 4 и № 5, связь со сфероидами проследить нельзя, хотя эти клетки можно уверенно отнести к злокачественному компоненту, коль скоро в них иногда наблюдаются признаки многоядерности. Нельзя утверждать также, что отрицательные на CD133 клетки не производят сфероиды на мягком агаре, так как в работе Ding [29], в частности, показали, что, как CD133⁺, так и CD133[–] клетки, отсортированные из ткани опухоли эндометрия по этому маркеру, могут образовывать сфероиды, но во втором случае менее эффективно.

Таким образом, невозможно однозначно установить, какие из клеток полученных нами первичных культур РЭ принимали участие в формировании сфероидов. Некоторая предположительная связь может быть установлена только для мелких эпителиоподобных и фибробластоподобных CD133⁺ клеток, из которых только первые могут быть условно отнесены к злокачественным. Для выявления именно ОСК РЭ требуется провести сравнительное исследование клеточных культур на мягком агаре,

полученных из ткани опухоли и соответствующей ей нормальной ткани, в сочетании с клеточным сортированием с использованием маркеров CD133, CD44, CD117, CD24, CD47 и других, для которых были установлены связь с ОСК и нормальными стромальными стволовыми клетками [32].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нам удалось получить и охарактеризовать культуру клеточных сфероидов из послеоперационного

материала РЭ. Тем не менее, показатели частоты сфероидообразования и среднего размера сфероидов в этой культуре не могут служить маркером количества ОСК в ткани опухоли без сравнения этих данных для ткани опухоли и нормального эндометрия. Требуется более подробное изучение клеточных субпопуляций РЭ в сравнении с нормальным эндометрием для установления связи между наблюдаемым разнообразием клеток в культуре и их способностью к сфероидообразованию и другими характеристиками ОСК.

Список источников

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021 May;71(3):209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
2. Состояние онкологической помощи населению России в 2022 году. Под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, А. О. Шахзадовой М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2022, 239 с.
3. Giannone G, Attademo L, Scotto G, Genta S, Ghisoni E, Tuninetti V, et al. Endometrial Cancer Stem Cells: Role, Characterization and Therapeutic Implications. *Cancers (Basel).* 2019 Nov 19;11(11):1820. <https://doi.org/10.3390/cancers11111820>
4. Walcher L, Kistenmacher AK, Suo H, Kitte R, Dluczek S, Strauß A, et al. Cancer Stem Cells-Origins and Biomarkers: Perspectives for Targeted Personalized Therapies. *Front Immunol.* 2020;11:1280. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01280>
5. Hubbard SA, Friel AM, Kumar B, Zhang L, Rueda BR, Gargett CE. Evidence for cancer stem cells in human endometrial carcinoma. *Cancer Res.* 2009 Nov 1;69(21):8241–8248. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-4808>
6. Rahadiani N, Ikeda J, Ichiro, Mamat S, Matsuzaki S, Ueda Y, Umehara R, et al. Expression of aldehyde dehydrogenase 1 (ALDH1) in endometrioid adenocarcinoma and its clinical implications. *Cancer Sci.* 2011 Apr;102(4):903–908. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2011.01864.x>
7. Lennartsson J, Rönstrand L. Stem cell factor receptor/c-Kit: from basic science to clinical implications. *Physiol Rev.* 2012 Oct;92(4):1619–1649. <https://doi.org/10.1152/physrev.00046.2011>
8. Zhang X, Kyo S, Nakamura M, Mizumoto Y, Maida Y, Bono Y, et al. Imatinib sensitizes endometrial cancer cells to cisplatin by targeting CD117-positive growth-competent cells. *Cancer Lett.* 2014 Apr 1;345(1):106–114. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2013.11.020>
9. Saygin C, Wiechert A, Rao VS, Alluri R, Connor E, Thiagarajan PS, et al. CD55 regulates self-renewal and cisplatin resistance in endometrioid tumors. *J Exp Med.* 2017 Sep 4;214(9):2715–2732. <https://doi.org/10.1084/jem.20170438>
10. Hassn Mesrati M, Syafruddin SE, Mohtar MA, Syahir A. CD44: A Multifunctional Mediator of Cancer Progression. *Biomolecules.* 2021 Dec 9;11(12):1850. <https://doi.org/10.3390/biom11121850>
11. Elbasateeny SS, Salem AA, Abdelsalam WA, Salem RA. Immunohistochemical expression of cancer stem cell related markers CD44 and CD133 in endometrial cancer. *Pathol Res Pract.* 2016 Jan;212(1):10–16. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2015.10.008>
12. Park JY, Hong D, Park JY. Association between Morphological Patterns of Myometrial Invasion and Cancer Stem Cell Markers in Endometrial Endometrioid Carcinoma. *Pathol Oncol Res.* 2019 Jan;25(1):123–130. <https://doi.org/10.1007/s12253-017-0320-5>
13. Грабовенко Ф. И., Кисиль О. В., Павлова Г. В., Зверева М. Э. Белок CD133 как маркер опухолевых стволовых клеток. *Журнал «Вопросы нейрохирургии» имени Н. Н. Бурденко.* 2022;86(6):113–120. <https://doi.org/10.17116/neiro202286061113>, EDN: FYRKWQ
14. Rutella S, Bonanno G, Procoli A, Mariotti A, Corallo M, Prisco MG, et al. Cells with characteristics of cancer stem/progenitor cells express the CD133 antigen in human endometrial tumors. *Clin Cancer Res.* 2009 Jul 1;15(13):4299–311. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-1883>

15. Gao Y, Liu T, Cheng W, Wang H. Isolation and characterization of proliferative, migratory and multidrug-resistant endometrial carcinoma-initiating cells from human type II endometrial carcinoma cell lines. *Oncol Rep.* 2012 Aug;28(2):527–532. <https://doi.org/10.3892/or.2012.1807>
16. Friel AM, Zhang L, Curley MD, Therrien VA, Sergeant PA, Belden SE, et al. Epigenetic regulation of CD133 and tumorigenicity of CD133 positive and negative endometrial cancer cells. *Reprod Biol Endocrinol.* 2010 Dec 1;8:147. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-8-147>
17. Sun Y, Yoshida T, Okabe M, Zhou K, Wang F, Soko C, et al. Isolation of Stem-Like Cancer Cells in Primary Endometrial Cancer Using Cell Surface Markers CD133 and CXCR4. *Transl Oncol.* 2017 Dec;10(6):976–987. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2017.07.007>
18. Кутилин Д. С., Никитин И. С., Кит О. И. Особенности экспрессии генов некоторых транскрипционных факторов при малигнизации тканей тела матки. *Успехи молекулярной онкологии.* 2019;6(1):57–62. <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2019-6-1-57-62>, EDN: KWOXFG
19. Mancebo G, Sole-Sedeno JM, Pino O, Miralpeix E, Mojal S, Garrigos L, et al. Prognostic impact of CD133 expression in Endometrial Cancer Patients. *Sci Rep.* 2017 Aug 9;7(1):7687. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08048-0>
20. Nakamura M, Kyo S, Zhang B, Zhang X, Mizumoto Y, Takakura M, et al. Prognostic impact of CD133 expression as a tumor-initiating cell marker in endometrial cancer. *Hum Pathol.* 2010 Nov;41(11):1516–1529. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2010.05.006>
21. Karbanová J, Missol-Kolka E, Fonseca AV, Lorra C, Janich P, Hollerová H, et al. The stem cell marker CD133 (Prominin-1) is expressed in various human glandular epithelia. *J Histochem Cytochem.* 2008 Nov;56(11):977–993. <https://doi.org/10.1369/jhc.2008.951897>
22. Pastrana E, Silva-Vargas V, Doetsch F. Eyes wide open: a critical review of sphere-formation as an assay for stem cells. *Cell Stem Cell.* 2011 May 6;8(5):486–498. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2011.04.007>
23. Helweg LP, Windmüller BA, Burghardt L, Storm J, Förster C, Wethkamp N, et al. The Diminishment of Novel Endometrial Carcinoma-Derived Stem-like Cells by Targeting Mitochondrial Bioenergetics and MYC. *Int J Mol Sci.* 2022 Feb 22;23(5):2426. <https://doi.org/10.3390/ijms23052426>
24. Chan RW, Schwab KE, Gargett CE. Clonogenicity of human endometrial epithelial and stromal cells. *Biol Reprod.* 2004 Jun;70(6):1738–50. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.024109>
25. Schwab KE, Hutchinson P, Gargett CE. Identification of surface markers for prospective isolation of human endometrial stromal colony-forming cells. *Hum Reprod.* 2008 Apr;23(4):934–943. <https://doi.org/10.1093/humrep/den051>
26. Ситковская А. О., Златник Е. Ю., Филиппова С. Ю., Бондаренко Е. С., Ващенко Л. Н., Кечеджиева Э. Э. и др. Влияние интерлейкинов 2, 7, 15 на пролиферацию натуральных киллеров in vitro. *Российский биотерапевтический журнал.* 2021;20(1):56–66. <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2021-20-1-56-66>, EDN: SKZQFC
27. Хаитов Р. М. Иммунология: учебник. 2-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015, 528 с.
28. Tabuchi Y, Hirohashi Y, Hashimoto S, Mariya T, Asano T, Ikeo K, et al. Clonal analysis revealed functional heterogeneity in cancer stem-like cell phenotypes in uterine endometrioid adenocarcinoma. *Exp Mol Pathol.* 2019 Feb;106:78–88. <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2018.11.013>
29. Ding DC, Liu HW, Chang YH, Chu TY. Expression of CD133 in endometrial cancer cells and its implications. *J Cancer.* 2017;8(11):2142–2153. <https://doi.org/10.7150/jca.18869>
30. Tárnok A, Ulrich H, Bocsi J. Phenotypes of stem cells from diverse origin. *Cytometry A.* 2010 Jan;77(1):6–10. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.20844>
31. Ulrich D, Tan KS, Deane J, Schwab K, Cheong A, Rosamilia A, et al. Mesenchymal stem/stromal cells in post-menopausal endometrium. *Hum Reprod.* 2014 Sep;29(9):1895–1905. <https://doi.org/10.1093/humrep/deu159>
32. Frąszczak K, Barczyński B. Characteristics of Cancer Stem Cells and Their Potential Role in Endometrial Cancer. *Cancers (Basel).* 2024 Mar 7;16(6):1083. <https://doi.org/10.3390/cancers16061083>

Информация об авторах:

Филиппова Светлана Юрьевна – научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4558-5896>, SPIN: 9586-2785, AuthorID: 878784, ResearcherID: AAH-4408-2020, Scopus Author ID: 57189618843

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

Чембарова Татьяна Владимировна ✉ – младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4555-8556>, SPIN: 5426-1873, AuthorID: 1051985, ResearcherID: AAR-3198-2021, Scopus Author ID: 57221303597

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: 57202252773

Вереникина Екатерина Владимировна – д.м.н., заведующая отделением онкогинекологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1084-5176>, SPIN: 6610-7824, AuthorID: 734269, Scopus Author ID: 57194271506

Женило Оксана Евгеньевна – к.м.н., врач-онколог отделения онкогинекологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9833-8530>, SPIN: 4078-7080, AuthorID: 732220

Половодова Вероника Васильевна – аспирант, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-8863-6229>, SPIN: 3051-4734, AuthorID: 1214151

Шапошников Александр Васильевич – д.м.н., профессор, главный научный сотрудник торакоабдоминального отдела, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6881-2281>, SPIN: 8756-9438, AuthorID: 712823

Шалашная Елена Владимировна – 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/0000-0001-7742-4918>, SPIN: 2752-0907, AuthorID: 476968, ResearcherID: AAE-4085-2022, Scopus Author ID: 55144159900

Маслов Андрей Александрович – д.м.н., профессор, главный врач, заслуженный врач Российской Федерации, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7328-8074>, SPIN: 5963-5915, AuthorID: 817983

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

Вклад авторов:

Филиппова С. Ю. – концепция и дизайн исследования, написание рукописи, интерпретация результатов;
Межева И. В. – проведение эксперимента;
Чембарова Т. В. – техническое редактирование рукописи;
Новикова И. А. – научное редактирование статьи;
Вереникина Е. В. – предоставление биологического материала пациентов;
Женило О. Е. – предоставление биологического материала пациентов;
Половодова В. В. – предоставление биологического материала пациентов;
Шапошников А. В. – научное редактирование статьи;
Шалашная Е. В. – научное редактирование статьи;
Маслов А. А. – научное редактирование статьи;
Ишонина О. Г. – научное редактирование статьи.

Прогностические факторы, влияющие на показатели выживаемости у больных старческого возраста с метастатическим почечноклеточным раком

Д. В. Семенов^{1,2✉}, Р. В. Орлова^{1,2}, В. И. Широкопад³, С. В. Кострицкий³, П. В. Кононец⁴

¹ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

² СПб ГУЗ «Городской клинический онкологический диспансер», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

³ ГБУЗ «Московская городская онкологическая больница № 62 Департамента здравоохранения города Москвы», г. Москва, Российская Федерация

⁴ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация

✉ sema.69@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Определить влияние прогностических факторов на показатели выживаемости у пациентов с метастатическим почечно-клеточным раком (мПКР) в возрасте ≥ 75 лет.

Материалы и методы. В ретроспективное исследование были включены 77 пациентов с мПКР в возрасте ≥ 75 лет, которые получали системную терапию на базе Городской онкологической больницы № 62 г. Москвы и Городском онкологическом диспансере г. Санкт-Петербурга с 2006 по 2019 гг. Клинические данные из медицинских карт были получены и проанализированы ретроспективно, всем пациентам было проведено клинико-лабораторное, патоморфологическое исследование. Показатели выживаемости пациентов оценивали с помощью статистического метода анализа времени жизни (Survival Analysis) с расчетом описательных характеристик времени жизни в форме таблицы жизни и построения кривых Каплана-Мейера.

Результаты. В настоящем исследовании благоприятный прогноз по IMDC у больных с мПКР ≥ 75 лет отмечен у 20,8 % пациентов, солитарные метастазы у 6,5 %. Показатели 3 и 5-тилетней выживаемости составили 35,8 % и 21,2 %.

При однофакторном анализе у больных мПКР ≥ 75 лет, выявлено, что отрицательное влияние на показатели выживаемости оказывали ECOG статус ($p < 0,001$), гистологический подтип ($p = 0,01$), степень дифференцировки опухоли по Fuhrman ($p = 0,003$), тип метастазов ($p = 0,045$), метастазы в печень ($p < 0,001$), прогноз по IMDC ($p = 0,042$) и проведение нефрэктомии ($p = 0,014$).

Заключение. Факторами, влияющими на показатели выживаемости у пациентов с мПКР в возрасте ≥ 75 лет, при многофакторном анализе являлись пол, гистологический подтип, количество метастазов, метастазы в кости и лимфатические узлы, прогноз по IMDC, а также проведение лучевой терапии и нефрэктомии.

Для определения дополнительных персонализированных факторов прогноза у больных старческого возраста с мПКР необходимы дальнейшие исследования.

Ключевые слова: метастатический почечно-клеточный рак, общая выживаемость, пожилые пациенты

Для цитирования: Семенов Д. В., Орлова Р. В., Широкопад В. И., Кострицкий С. В., Кононец П. В. Прогностические факторы, влияющие на показатели выживаемости у больных старческого возраста с метастатическим почечноклеточным раком. Южно-Российский онкологический журнал. 2024; 5(3): 31-38. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-3-3>, <https://elibrary.ru/gskqjk>

Для корреспонденции: Семенов Дмитрий Владимирович – к.м.н., доцент кафедры онкологии Медицинского факультета ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация; врач отделения онкоурологии, СПбГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Адрес: 199034, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, Университетская набережная, д. 7/9

Адрес: 198255, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, пр. Ветеранов, д. 56

E-mail: sema.69@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4335-8446>

SPIN: 2342-6530, AuthorID: 202214

ResearcherID: KQU-5717-2024

Scopus Author ID: 58596081800

Соблюдение этических стандартов: в работе соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ред. 2013). Исследование одобрено Этическим комитетом СПбГБУЗ «Городской Онкологический Диспансер» (протокол № 2356 от 20.05.2022 г.). Информированное согласие получено от всех участников исследования

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось

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

Статья поступила в редакцию 02.03.2024; одобрена после рецензирования 31.05.2024; принята к публикации 24.07.2024

© Семенов Д. В., Орлова Р. В., Широкопад В. И., Кострицкий С. В., Кононец П. В., 2024

Prognostic factors influencing survival rates in elderly patients with metastatic renal cell carcinoma

D. V. Semenov^{1,2✉}, R. V. Orlova^{1,2}, V. I. Shirokorad³, S. V. Kostitskiy³, P. V. Kononets⁴

¹ St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

² City Clinical Oncological Dispensary, St. Petersburg, Russian Federation

³ Moscow City Oncological Hospital No. 62 of the Moscow City Health Department, Moscow, Russian Federation

⁴ N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russian Federation

✉ sema.69@mail.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. To determine the influence of prognostic factors on survival rates in patients with mRCC aged ≥ 75 years.

Materials and methods. A retrospective study included 77 mRCC patients aged ≥ 75 years who received systemic therapy at the Municipal Oncologic Hospital No. 62 in Moscow and the Municipal Oncologic Dispensary in St. Petersburg from 2006 to 2019. Clinical data from medical records were obtained and analyzed retrospectively, all patients underwent clinical, laboratory, and pathomorphological examination. Patients' survival rates were evaluated using the statistical method of survival time analysis (Survival Analysis). Descriptive characteristics of survival time were calculated in the form of life tables, and Kaplan-Meier curves were constructed.

Results. In the present study, a favorable prognosis according to International Metastatic Renal Cell Carcinoma Database Consortium (IMDC) was noted in 20.8 % of patients with mRCC aged ≥ 75 years; 6.5 % had solitary metastases. The 3- and 5-year survival rates were 35.8 % and 21.2 %.

In single-factor analysis in mRCC patients ≥ 75 years of age, it was found that ECOG status ($p < 0.001$), histological subtype ($p = 0.01$), Fuhrman grade of tumour differentiation ($p = 0.003$), type of metastases ($p = 0.045$), liver metastases ($p < 0.001$), IMDC prognosis ($p = 0.042$) and nephrectomy ($p = 0.014$).

Conclusion. In a multivariate analysis, factors affecting survival in patients with mRCC aged ≥ 75 years included sex, histologic subtype, number of metastases, bone and lymph node metastases, IMDC prognosis, and radiation therapy and nephrectomy. Further studies are needed to identify additional personalized prognostic factors in elderly patients with metastatic renal cell carcinoma (mRCC).

Keywords: metastatic renal cell carcinoma, overall survival rate, elderly patients

For citation: Semenov D. V., Orlova R. V., Shirokorad V. I., Kostitskiy S. V., Kononets P. V. Prognostic factors influencing survival rates in elderly patients with metastatic renal cell carcinoma. South Russian Journal of Cancer. 2024; 5(3): 31-38. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-3-3>, <https://elibrary.ru/gskqjk>

For correspondence: Dmitry V. Semenov – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor of the Department of Oncology, Faculty of Medicine, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russian Federation; Physician in the Oncurology Department, City Clinical Oncological Dispensary, Saint Petersburg, Saint Petersburg, Russian Federation

Address: 7/9 Universitetskaya Embankment, Saint Petersburg 199034, Russian Federation

Address: 56 Veterans Ave., Saint Petersburg 198255, Russian Federation

E-mail: sema.69@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4335-8446>

SPIN: 2342-6530, AuthorID: 202214

ResearcherID: KQU-5717-2024

Scopus Author ID: 58596081800

Compliance with ethical standards: the study adhered to the ethical principles outlined in the World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, revised in 2013). The research was approved by the Ethics Committee of the Saint Petersburg City Clinical Oncological Dispensary (protocol No. 2356 dated May 20, 2022). Informed consent was obtained from all study participants

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 02.03.2024; approved after reviewing 31.05.2024; accepted for publication 24.07.2024

ВВЕДЕНИЕ

За последнее десятилетие заболеваемость почечно-клеточным раком (ПКР) ежегодно увеличивается. ПКР встречается у 25 % пациентов с вновь диагностированным ПКР старше 75 лет [1]. В настоящее время большинство больных метастатическим почечно-клеточным раком (мПКР) получает различные варианты системной терапии, благодаря чему медиана общей выживаемости (ОВ) увеличилась до 4 лет [2, 3]. Известно, что у больных старческого возраста активность опухолевого процесса ниже за счет замедления обменных процессов в организме. Проведение современной лекарственной терапии способствует повышению показателей ОВ

у больных мПКР, в том числе и у больных старческого возраста [4]. Но агрессивная системная терапия у больных ≥ 75 лет сопряжена с повышенным риском нежелательных побочных явлений, ухудшающих качество жизни.

Цель исследования: изучить прогностические факторы у пациентов с мПКР в возрасте ≥ 75 лет, влияющие на показатели выживаемости.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведен ретроспективный анализ 77 пациентов в возрасте ≥ 75 лет, которые получали системную терапию на базе Городской онкологической больницы № 62 г. Москвы и Городском онкологическом

Таблица 1. Характеристика больных

Характеристика	≥ 75 лет ($n = 77$), n (%)
Пол:	
Мужской	51 (66,2)
Женский	26 (33,8)
Статус по шкале ECOG:	
0	1 (1,3)
1	29 (37,7)
2	35 (45,5)
3	12 (15,6)
Гистологический вариант:	
Светлоклеточный рак	64 (83,1)
Несветлоклеточный рак	13 (16,9)
Степень дифференцировки:	
G1	18 (23,4)
G2	27 (35,1)
G3	32 (41,6)
Тип метастазов:	
Метахронные	53 (68,8)
Синхронные	24 (31,2)
Количество метастазов:	
Солитарные	5 (6,5)
Единичные	27 (35,1)
Множественные	45 (58,4)
Прогноз по IMDC:	
Благоприятный	16 (20,8)
Промежуточный	32 (41,6)
Неблагоприятный	29 (37,7)
Локализация метастазов:	
В легких	48 (62,3)
В костях	26 (33,8)
В печени	6 (7,8)
В лимфатических узлах	21 (27,3)
Предыдущая нефрэктомия	71 (92,2)
Метастазэктомия	11 (14,3)
Лучевая терапия	10 (13)

диспансере г. Санкт-Петербурга с 2006 по 2019 г. Все пациенты получали системную противоопухолевую терапию. Оценивалось влияние клинкоморфологических факторов на показатели ОВ.

Подробная характеристика пациентов приведена в таблице 1.

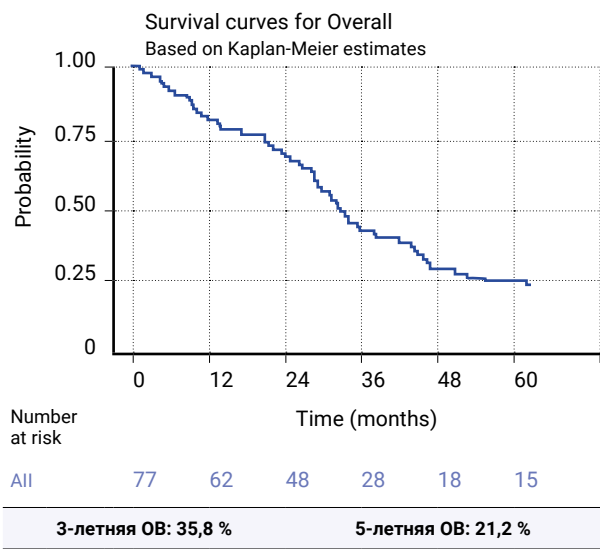
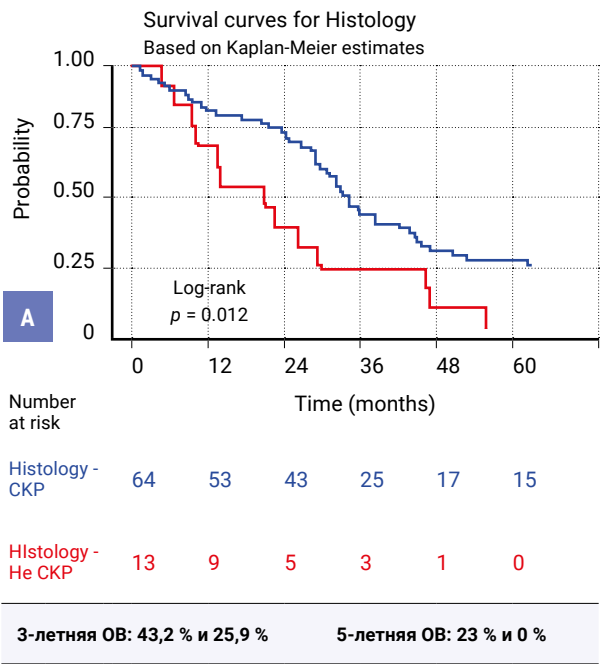


Рис. 1. Общая выживаемость (ОВ) больных ≥ 75 лет мПКР ($n = 77$)



Данные пациентов были консолидированы в виде электронных таблиц и анализировались с помощью программы Statistica 12 for Windows. Продолжительность жизни рассчитывали от даты диагноза до даты последнего наблюдения или смерти. Выживаемость оценивали по методу Каплана-Майера, различия выживаемости определяли с помощью log-rank теста; для исключения факторов, не имеющих самостоятельной прогностической значимости, использовали регрессионный анализ Соx. Проводился анализ ОВ больных мПКР ≥ 75 лет в зависимости от гистологического варианта опухоли, степени дифференцировки опухоли по Fuhrman, группы прогноза IMDC, количества, типа и локализации метастазов, проведения циторедуктивных операций и лучевой терапии.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клинкоморфологические характеристики 77 больных представлены в табл. 1. Средний возраст составил 79 (75–95) лет. Светлоклеточный почечноклеточный рак выявлен у 64 (83,1 %) пациентов. Благоприятный, промежуточный и неблагоприятный прогноз по IMDC у 16 (20,8 %), 32 (41,6 %) и 29 (37,7 %) пациентов. Солитарные, единичные

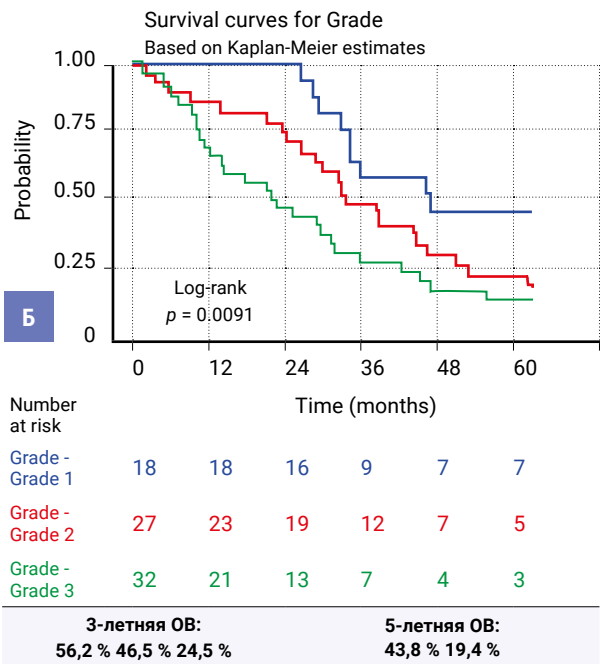


Рис. 2. Общая выживаемость (ОВ) у пациентов ≥ 75 лет мПКР в зависимости от гистологического подтипа (А) и дифференцировки опухоли по Fuhrman (Б) ($n = 77$)

и множественные метастазы выявлены у 5 (6,5 %), 27 (35,1 %) и 45 (58,4 %) больных соответственно. Показатели 3 и 5-летней ОБ у больных мПКР составили 39,7 % [29,8–52,76 %; 95 % ДИ] и 21,2 % [13,6–33,24 %; 95 % ДИ] соответственно,

при этом медиана ОБ составила 32,4 [28,9–38,6 %; 95 ДИ] месяца (рис. 1). При однофакторном анализе у больных мПКР ≥ 75 лет выявлено, что отрицательное влияние на показатели выживаемости оказывали ECOG ста-

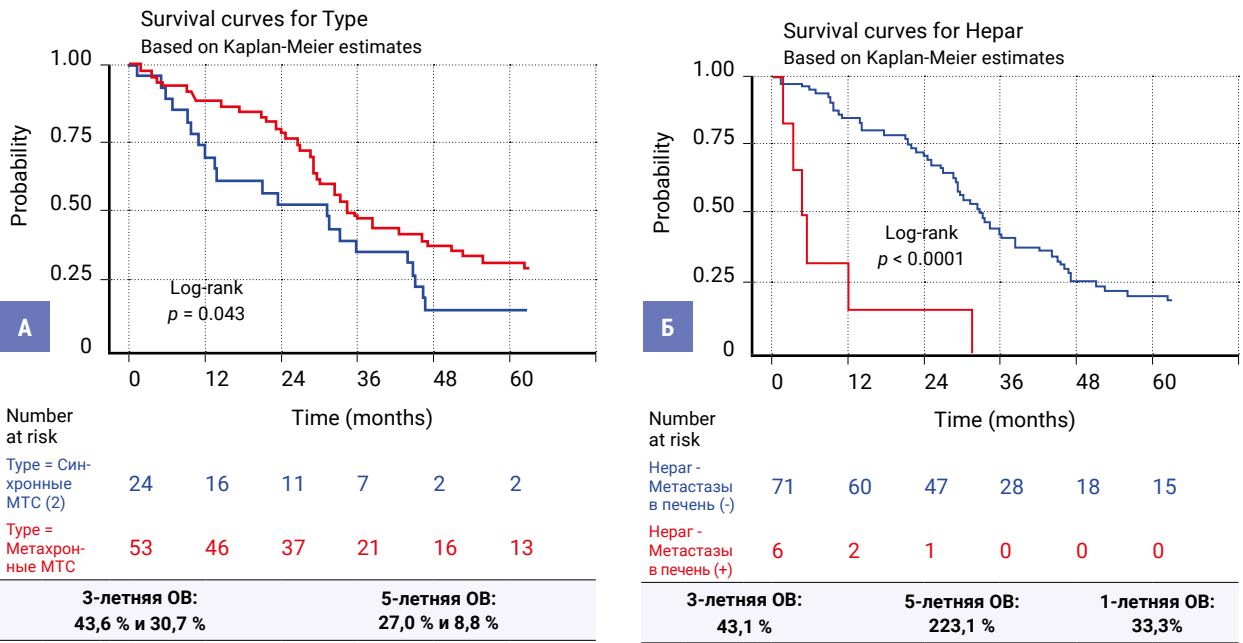


Рис. 3. Общая выживаемость (ОБ) у пациентов ≥ 75 лет мПКР в зависимости от типа метастазов (А) и метастазов в печень (Б) (n = 77)

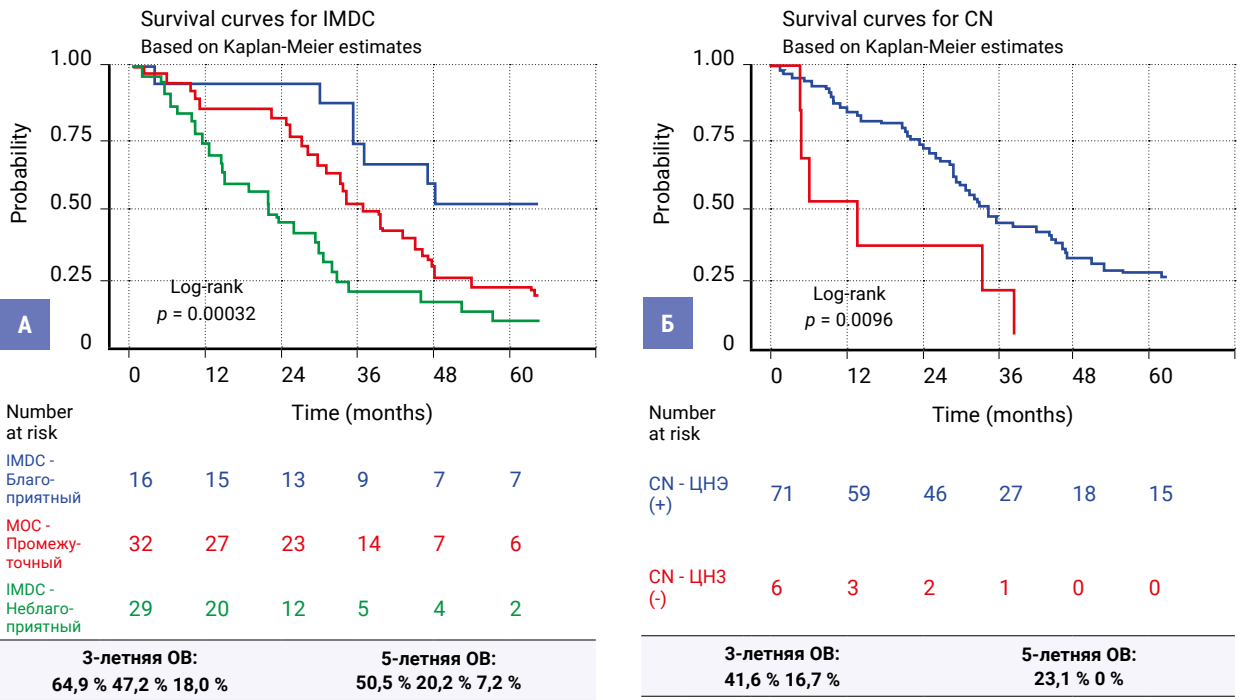


Рис. 4. Общая выживаемость (ОБ) у пациентов ≥ 75 лет зависимости от прогноза по IMDC (А) и выполнения НЗ (Б) (n = 77)

Таблица 2. Факторы прогноза общей выживаемости больных ≥ 75 лет мПКР ($n = 77$) (однофакторный и многофакторный анализ)*

Фактор	Отношение рисков (95 % доверительный интервал)	
	Однофакторный анализ	Многофакторный анализ
Пол:		
мужской	–	–
женский	0,62 (0,37–1,05, $p = 0,077$)	0,27 (0,16–0,46, $p < 0,001$)
Статус по шкале ECOG		
0	–	–
1	20379783,9 (0,00-Inf, $p = 0,997$)	41895,8 (24218–1572477,23, $p < 0,001$)
2	38320352,5 (0,00-Inf, $p = 0,997$)	69920,5 (41671,28–117320,25, $p < 0,001$)
3	82331370,5 (0,00-Inf, $p = 0,996$)	112174,0 (53540,28–235019,58, $p < 0,001$)
Гистологический вариант:		
светлоклеточный рак	–	–
несветлоклеточный рак	2,19 (1,17–4,09, $p = 0,014$)	1,92 (1,02–3,60, $p = 0,043$)
Степень Дифференцировки:		
G1	–	–
G2	1,74 (0,90–3,36, $p = 0,100$)	1,43 (0,86–2,36, $p = 0,169$)
G3	2,71 (1,40–5,25, $p = 0,003$)	1,38 (0,83–2,32, $p = 0,218$)
Metastasis type:		
метахронные	–	–
синхронные	0,59 (0,35–0,99, $p = 0,045$)	1,22 (0,71–2,08, $p = 0,478$)
Количество метастазов:		
солитарные	–	–
единичные	0,64 (0,24–1,71, $p = 0,372$)	0,59 (0,35–1,00, $p = 0,050$)
множественные	1,33 (0,52–3,42, $p = 0,553$)	1,66 (1,00–2,73, $p = 0,049$)
Метастазы в легкие:		
нет	–	–
есть	1,58 (0,38–6,64, $p = 0,532$)	1,29 (0,81–2,08, $p = 0,139$)
Метастазы в кости:		
нет	–	–
есть	1,17 (0,69–1,98, $p = 0,557$)	3,09 (1,82–5,23, $p < 0,001$)
Метастазы в печень:		
нет	–	–
есть	6,68 (2,74–16,28, $p < 0,001$)	1,86 (0,74–4,69, $p = 0,186$)
Метастазы в лимфатические узлы:		
нет	–	–
есть	1,16 (0,68–1,97, $p = 0,595$)	0,54 (0,31–0,93, $p = 0,026$)
Прогноз по IMDC:		
благоприятный	–	–
промежуточный	4,00 (1,93–8,29, $p < 0,001$)	1,94 (1,13–3,33, $p = 0,016$)
неблагоприятный	2,07 (1,03–4,18, $p = 0,042$)	1,93 (1,17–3,20, $p = 0,010$)
Лучевая терапия:		
нет	–	–
да	0,99 (0,44–2,20, $p = 0,979$)	0,28 (0,12–0,64, $p = 0,002$)
Нефрэктомия:		
да	–	–
нет	2,95 (1,25–6,99, $p = 0,014$)	6,08 (2,54–14,58, $p < 0,001$)
Метастазэктомия	0,41 (0,05–3,53, $p = 0,419$)	0,65 (0,28–1,46, $p = 0,323$)

Примечание: в таблице приведены только факторы, продемонстрирующие прогностическую значимость

тус ($p < 0,001$), гистологический подтип ($p = 0,01$), степень дифференцировки опухоли по Fuhrman ($p = 0,003$), тип метастазов ($p = 0,045$), метастазы в печень ($p < 0,001$), прогноз по IMDC ($p = 0,042$) и проведение нефрэктомии ($p = 0,014$) (табл. 2, рис. 2–4).

Медиана ОВ при светлоклеточном и несветлоклеточном раке составила 34,4 [30,0–44,6; 95 % ДИ] и 21,2 [10,4–NA; 95 % ДИ] месяцев соответственно, а при G1, G2 и G3 составила 46,4 [34,4–NA; 95 % ДИ], 33,4 [26,9–51; 95 % ДИ] и 21,7 [13,9–31,6; 95 % ДИ] месяцев соответственно.

Медиана ОВ при метакхронных и синхронных метастазах составила 33 [29,1–46,9; 95 % ДИ] и 23,7 [12–44,6; 95 % ДИ] месяцев соответственно, а при отсутствии и наличии метастазов в печень составила 33,4 [29,1–44,6; 95 % ДИ] и 5,1 [3,5–NA; 95 % ДИ] месяцев соответственно.

Медиана ОВ при благоприятном, промежуточном и неблагоприятном прогнозах составила 65,2 [35,9–NA; 95 % ДИ], 35,8 [29–46,3; 95 % ДИ] и 21,2 [13,7–31,1; 95 % ДИ] месяцев соответственно, а при наличии или отсутствии НЭ составила 32,6 [29–44,6; 95 % ДИ] и 10 [5–NA; 95 % ДИ] месяцев соответственно.

При многофакторном анализе пол [HR = 0,27 (95 % ДИ = 0,16–0,46)], ECOG статус [HR = 112174,0 (95 % ДИ = 53540,28–235019,58)], гистологический подтип [HR = 1,92 (95 % ДИ = 1,02–3,60)], количество метастазов [HR = 1,66 (95 % ДИ = 1,00–2,73)], метастазы в кости [HR = 3,09 (95 % ДИ = 1,82–5,23)] и лимфатические узлы [HR = 0,54 (95 % ДИ = 0,31–0,93)], прогноз по IMDC [HR = 1,93 (95 % ДИ = 1,17–3,20)], а также проведение лучевой терапии [HR = 0,28 (95 % ДИ = 0,12–0,64)] и нефрэктомии [HR = 6,08 (95 % ДИ = 2,54–14,58)] были дополнительными факторами, оказывающими независимое отрицательное влияние на показатели ОВ у пациентов с мПКиР старческого возраста (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время благодаря увеличению продолжительности жизни в мире растет количество больных старческого возраста с ПКР, у 25 % пациентов старше 75 лет впервые диагностируется ПКР [1]. В ретроспективном исследовании R. Kanesvaran и соавт. пожилой возраст не влияет на показатели ОВ при мПКиР [5]. В нашем исследовании показатели 3 и 5-летней ОВ у больных мПКиР ≥ 75 лет составили 35,8 % и 21,2 %. В работе Ryuichi Mizuno и соавт.

снижение показателей ОВ у больных старческого возраста возможно за счет несбалансированного распределения пациентов в группах прогноза по IMDC, более высокой частоты анемии, а также более высокого процента пациентов, получающих симптоматическую терапию вместо системной терапии второй линии [6]. В нашем исследовании анемия отмечена у 35,1 % больных, 1/5 больных в группе благоприятного прогноза по IMDC, треть больных имели метастазы в костях.

Снижение показателей ОВ возможно происходит за счет неэффективной терапии у пациентов старческого возраста и раннего перевода этой категории на симптоматическое лечение [7]. Современная лекарственная терапия за последние несколько десятилетий привела к значительному увеличению показателей ОВ у больных мПКиР. Пожилые пациенты после проведения первой линии системной терапии не всегда переводятся на вторую линию из-за высокого риска развития нежелательных явлений. Это происходит из-за недостатка доказательств, что пожилые больные могут переносить системную терапию двух и более линий с целью повышения показателей ОВ. В настоящее время в дополнение к прогностическим факторам прогноза разрабатываются персонализированные терапевтические стратегии [8, 9]. В нашем исследовании мы установили дополнительные прогностические факторы, влияющие на показатели выживаемости у больных старческого возраста с мПКиР.

Ограничениями настоящего исследования являются размер изученной группы больных и его ретроспективный характер. Необходимы дальнейшие исследования для разработки персонализированных подходов у пациентов старческого возраста с мПКиР для повышения качества жизни и увеличения показателей ОВ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Факторами, влияющими на показатели выживаемости у пациентов с мПКиР в возрасте ≥ 75 лет, при многофакторном анализе являлись пол, гистологический подтип, количество метастазов, метастазы в кости и лимфатические узлы, прогноз по IMDC, а также проведение лучевой терапии и нефрэктомии.

Для определения дополнительных персонализированных факторов прогноза у больных старческого возраста с мПКиР необходимы дальнейшие исследования.

Список источников

1. Pal SK, Vanderwalde A, Hurria A, Figlin RA. Systemic therapies for metastatic renal cell carcinoma in older adults. *Drugs Aging*. 2011 Aug 1;28(8):635–649. <https://doi.org/10.2165/11592880-000000000-00000>
2. Motzer R, Alekseev B, Rha SY, Porta C, Eto M, Powles T, et al. Lenvatinib plus Pembrolizumab or Everolimus for Advanced Renal Cell Carcinoma. *N Engl J Med*. 2021 Apr 8;384(14):1289–1300. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2035716>
3. Xia Y, Liu X, Xu DF, Zhao CH. Exploring the feasibility of cytoreductive surgery for patients aged ≥ 75 years with metastatic renal cell carcinoma: A population-based study. *Asian J Surg*. 2023 Dec;46(12):5817–5819. <https://doi.org/10.1016/j.asjsur.2023.08.157>
4. Fujiwara Y, Miyashita H, Liaw BC. First-line therapy for elderly patients with advanced renal cell carcinoma in the immuno-oncology era: a network meta-analysis. *Cancer Immunol Immunother*. 2023 Jun;72(6):1355–1364. <https://doi.org/10.1007/s00262-022-03341-y>
5. Kanesvaran R, Le Saux O, Motzer R, Choueiri TK, Scotté F, Bellmunt J, et al. Elderly patients with metastatic renal cell carcinoma: position paper from the International Society of Geriatric Oncology. *Lancet Oncol*. 2018 Jun;19(6):e317–326. [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(18\)30125-6](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(18)30125-6)
6. Mizuno R, Yasumizu Y, Tanaka N, Takeda T, Morita S, Matsumoto K, et al. Anemia in patients ≥ 75 years with metastatic clear cell renal cell carcinoma: an important poor prognostic factor in the international metastatic renal cell carcinoma database consortium model. *BMC Urol*. 2024 Jan 11;24(1):13. <https://doi.org/10.1186/s12894-024-01403-0>
7. Quivy A, Daste A, Harbaoui A, Duc S, Bernhard JC, Gross-Goupil M, et al. Optimal management of renal cell carcinoma in the elderly: a review. *Clin Interv Aging*. 2013;8:433–442. <https://doi.org/10.2147/cia.s30765>
8. Teishima J, Inoue S, Hayashi T, Matsubara A. Current status of prognostic factors in patients with metastatic renal cell carcinoma. *Int J Urol*. 2019 Jun;26(6):608–617. <https://doi.org/10.1111/iju.13956>
9. De Giorgi U, Procopio G, Giannarelli D, Sabbatini R, Bearz A, Buti S, et al. Association of Systemic Inflammation Index and Body Mass Index with Survival in Patients with Renal Cell Cancer Treated with Nivolumab. *Clin Cancer Res*. 2019 Jul 1;25(13):3839–3846. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-18-3661>

Информация об авторах:

Семенов Дмитрий Владимирович ✉ – к.м.н., доцент кафедры онкологии Медицинского факультета ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация; врач отделения онкоурологии, СПб ГУЗ «Городской клинический онкологический диспансер», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4335-8446>, SPIN: 2342-6530, AuthorID: 202214, ResearcherID: KQU-5717-2024, Scopus Author ID: 58596081800

Орлова Рашида Вахидовна – д.м.н., профессор, заведующая кафедрой онкологии Медицинского факультета ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация; главный специалист по клинической онкологии СПб ГУЗ «Городской клинический онкологический диспансер», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9368-5517>, SPIN: 9932-6170, AuthorID: 401170

Ширококорд Валерий Иванович – д.м.н., заведующий онкоурологическим отделением ГБУЗ «Московская городская онкологическая больница № 62 Департамента здравоохранения города Москвы», г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4109-6451>, AuthorID: 481900

Кострицкий Станислав Викторович – врач-онкоуролог, ГБУЗ «Московская городская онкологическая больница № 62 Департамента здравоохранения города Москвы», г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4494-1489>, SPIN: 1421-2469, AuthorID: 980451, ResearcherID: Y-6978-2018

Кононец Павел Вячеславович – д.м.н., профессор, директор НИИ КО им. Н. Н. Трапезникова, заведующий отделением торакальной онкологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4744-6141>, SPIN: 9884-6940, AuthorID: 755462

Вклад авторов:

Семенов Д. В. – сбор материала, анализ полученных данных, написание текста рукописи;
Орлова Р. В. – анализ полученных данных, редактирование текста рукописи;
Ширококорд В. И. – разработка дизайна исследования, получение данных для анализа, редактирование текста рукописи;
Кострицкий С. В. – сбор материала, анализ полученных данных;
Кононец П. В. – редактирование рукописи.

Рентгенэндоваскулярная хирургия в лечении пациентов с ишемической болезнью сердца в сочетании со злокачественными новообразованиями

Б. Г. Алекаян^{1,2}, А. А. Грицкевич¹, Н. Г. Карапетян³, Д. В. Ручкин¹, А. А. Печетов¹,
П. В. Марков¹, Б. Н. Гурмиков¹, Н. Л. Иродова¹, Л. Г. Гёлецын¹, Е. В. Токмаков¹,
А. В. Галстян^{1✉}, А. Ш. Ревшвили¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А. В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация

² ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация

³ Медицинский центр «Эребуни», г. Ереван, Республика Армения

✉ garturv@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Провести анализ отдаленных результатов различных стратегий рентгенэндоваскулярного лечения ишемической болезни сердца (ИБС) у пациентов с сопутствующими злокачественными новообразованиями (ЗНО).

Пациенты и методы. В ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А. В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации в период с 01.01.2018 по 31.12.2022 гг. проходили лечение 74 пациента с ИБС в сочетании с ЗНО. Мультидисциплинарным консилиумом пациенты были распределены на три группы: группа 1 ($n = 39$) – этапное лечение: первым этапом – выполнение чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ), вторым – хирургическое лечение ЗНО; группа 2 ($n = 14$) – этапное лечение: первым этапом выполнялось хирургическое лечение ЗНО, а вторым – ЧКВ; группа 3 ($n = 21$) – выполнение ЧКВ и открытого хирургического вмешательства проводилось в один день.

Результаты. На госпитальном этапе отмечено 3 (4,0 %) летальных исхода: 2 (5,1 %) – в группе 1, 1 (4,8 %) – в группе 3, причиной которых были осложнения, возникшие после онкологических хирургических вмешательств. У 1 (2,6 %) пациента из группы 1 отмечен инфаркт миокарда (ИМ) вследствие острого тромбоза стента в передней межжелудочковой ветви (ПМЖВ). Пациенту было выполнено успешное экстренное ЧКВ. В отдаленном периоде умерло 15 (25,4 %) пациентов, из которых 11 (18,7 %) – от прогрессирования ЗНО, а 4 (6,7 %) – от других причин. Среди больших сердечно-сосудистых осложнений наблюдались: 1 (3,2 %) ИМ в группе 1 и 1 (7,1 %) – в группе 2.

Заключение. В отдаленном периоде наблюдения ведущей причиной смерти (73,3 %) было прогрессирование ЗНО. Не было зафиксировано ни одного летального исхода от ИМ, что подтверждает важность и целесообразность выполнения реваскуляризации миокарда у данной группы пациентов. ЧКВ у пациентов с ИБС в сочетании с ЗНО позволяет эффективно и безопасно выполнить хирургическое лечение злокачественной патологии без кардиальной смертности как на госпитальном, так и в отдаленном периодах наблюдения.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, онкологическое заболевание, чрескожное коронарное вмешательство, злокачественное новообразование, рак, хирургическое лечение, стентирование коронарных артерий

Для цитирования: Алекаян Б. Г., Грицкевич А. А., Карапетян Н. Г., Ручкин Д. В., Печетов А. А., Марков П. В., Гурмиков Б. Н., Иродова Н. Л., Гёлецын Л. Г., Токмаков Е. В., Галстян А. В., Ревшвили А. Ш. Рентгенэндоваскулярная хирургия в лечении пациентов с ишемической болезнью сердца в сочетании со злокачественными новообразованиями. Южно-Российский онкологический журнал. 2024; 5(3):39-49. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-3-4>, <https://elibrary.ru/jdwvjw>

Для корреспонденции: Галстян Артур Варужанович – аспирант отдела рентгенэндоваскулярной хирургии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А. В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация. Адрес: 115093, Российская Федерация, г. Москва, ул. Большая Серпуховская, д. 27

E-mail: garturv@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1142-6763>

SPIN: 1783-8075, AuthorID: 1145819

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 этике научных исследований ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А. В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации (выписка из протокола заседания № 009–2021 от 26.11.2021 г.). Информированное согласие получено от всех участников исследования

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось

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

Статья поступила в редакцию 06.05.2024; одобрена после рецензирования 30.06.2024; принята к публикации 01.08.2024

© Алекаян Б. Г., Грицкевич А. А., Карапетян Н. Г., Ручкин Д. В., Печетов А. А., Марков П. В., Гурмиков Б. Н., Иродова Н. Л., Гёлецын Л. Г., Токмаков Е. В., Галстян А. В., Ревшвили А. Ш., 2024

Endovascular surgery in patients with coronary artery disease in combination with cancer

B. G. Alekryan^{1,2}, A. A. Gritskevich¹, N. G. Karapetyan³, D. V. Ruchkin¹, A. A. Pechetov¹, P. V. Markov¹, B. N. Gurmikov¹,
N. L. Irodova¹, L. G. Gyoletsyan¹, E. V. Tokmakov¹, A. V. Galstyan^{1✉}, A. Sh. Revishvili¹

¹ A. V. Vishnevskiy National Medical Research Center of Surgery, Moscow, Russian Federation

² Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russian Federation

³ Erebuni Medical Center, Yerevan, Republic of Armenia

✉ garturv@gmail.com

ABSTRACT

Purpose of the study. To analyze the long-term results from various strategies of endovascular treatment for coronary artery disease (CAD) in patients concomitant with cancer.

Patients and methods. 74 patients with both CAD disease and cancer were treated in A. V. Vishnevskiy Center from 01/01/2018 to 12/31/2022. By a multidisciplinary council, patients were divided into three groups: group 1 ($n = 39$) – staged treatment: percutaneous coronary intervention (PCI) is the first stage, the second is surgical treatment of cancer; group 2 ($n = 14$) – staged treatment: the first stage was surgical treatment of cancer, and the second stage was PCI; group 3 ($n = 21$) – PCI and open surgery were performed on the same day.

Results. In the immediate period, 3 (4.0 %) deaths were observed: 2 (5.1 %) in group 1, 1 (4.8 %) in group 3, the cause of which was complications arising after oncological surgical interventions. One (2.6 %) patient from group 1 had acute myocardial infarction (AMI) due to acute stent thrombosis in the left anterior descending artery (LAD). The patient underwent successful emergency PCI. In the long-term period, 15 (25.4 %) patients died, out of which 11 (18.7 %) from progression of cancer, and 4 (6.7 %) from other causes. Among the major cardiovascular complications, the following were observed: 1 (3.2 %) AMI in group 1 and 1 (7.1 %) in group 2.

Conclusion. In the long-term follow-up period, the leading cause of death (73,3 %) was progression of cancer. There were no detected from deaths AMI, which confirms the importance and feasibility of myocardial revascularization in this severe group of patients. PCI in patients with coronary artery disease in combination with cancer allows for effective and safe surgical treatment of malignant pathology without cardiac mortality both in the immediate and long-term follow-up periods.

Keywords: coronary heart disease, oncological disease, percutaneous coronary intervention, malignant neoplasm, cancer, surgical treatment, coronary artery stenting

For citation: Alekryan B. G., Gritskevich A. A., Karapetyan N. G., Ruchkin D. V., Pechetov A. A., Markov P. V., Gurmikov B. N., Irodova N. L., Gyoletsyan L. G., Tokmakov E. V., Galstyan A. V., Revishvili A. Sh. Endovascular surgery in patients with coronary artery disease in combination with cancer. South Russian Journal of Cancer. 2024; 5(3): 39-49. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-3-4>, <https://elibrary.ru/jdwvjw>

For correspondence: Arthur V. Galstyan – MD, PhD student of Endovascular Surgery Center, A. V. Vishnevskiy National Medical Research Center of Surgery, Moscow, Russian Federation
Address: 27 Bolshaya Serpukhovskaya str., Moscow 115093, Russian Federation
E-mail: garturv@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1142-6763>
SPIN: 1783-8075, AuthorID: 1145819

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 Research Ethics Committee of the A. V. Vishnevskiy National Medical Research Center of Surgery (extract from the protocol of the meeting No. 009–2021 dated 11/26/2021). Information consent was obtained from all study participants

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 06.05.2024; approved after reviewing 30.06.2024; accepted for publication 01.08.2024

ВВЕДЕНИЕ

В Российской Федерации первичное злокачественное новообразование (ЗНО) в 2021 г. выявлено у 580 415 пациентов: у 265 039 мужчин и 315 376 женщин.

Самыми частыми ЗНО у мужчин были: опухоли трахеи, бронхов, легкого (16,4 %), простаты (15,1 %), кожи (кроме меланомы) (9,8 %), желудка (7,0 %), ободочной кишки (7,0 %), прямой кишки, ректосигмоидного отдела, ануса (5,8 %). У женского пола основными новообразованиями являлись: рак молочной железы (22,1 %), новообразования кожи (кроме меланомы) (13,4 %), тела матки (8,1 %), ободочной кишки (7,2 %), шейки матки (4,9 %), прямой кишки, ректосигмоидного соединения, ануса (4,6 %), лимфатической и кроветворной ткани (4,4 %), желудка (4,2 %), яичника (4,2 %), трахеи, 4 бронхов, легкого (4,1 %). По сравнению с 2020 г., рост первично выявленных ЗНО в РФ составил 4,4 % [1].

С возрастом увеличиваются заболеваемость и смертность как от онкологических, так и от сердечно-сосудистых болезней, в том числе и ишемической болезни сердца (ИБС) [2]. При этом нередко встречается сочетание обеих нозологий. Так, по данным S. G. Al-Kindi и соавт., встречаемость ИБС у пациентов в сочетании с раком легких составляет 21 %, с раком молочной железы – 6 %, с колоректальным раком – 12 %, и с раком почек – 17 % [3].

Результаты выживаемости 3 234 256 онкологических пациентов показали, что в отдаленном периоде 1 228 328 (33 %) пациентов умерли непосредственно от ЗНО, в то время как от сердечно-сосудистых заболеваний – 365 689 (11,3 %), при этом 76,3 % из них занимали болезни сердца [4].

В онкологических учреждениях РФ среди всех ЗНО 50,6 % пациентов подверглись радикальному лечению. При этом хирургический метод был преимущественным и составил 59,5 %, а доля комбинированного лечения составила 28,6 % [5].

Осложнения, возникающие после хирургических вмешательств, в том числе онкологических, приводят к увеличению времени пребывания в стационаре, стоимости лечения, повышению смертности [6].

В крупной работе Ramamoorthy и соавт. представлена частота развития больших сердечно-сосудистых осложнений (МАССЕ) у 2 854 810 пациентов старше 40 лет, которые подверглись обширным оперативным вмешательствам по поводу ЗНО. Общая частота возникновения больших

сердечно-сосудистых событий в периоперационном периоде составила 2,4 % (67 316). При этом на долю ИМ приходилось 0,7–0,8 %. Самая большая частота МАССЕ была у пациентов, которым выполняли операцию на пищеводе (6 706 на 100 тыс. онкологических операций), далее следуют операции на печени (5 284 на 100 тыс. онкологических операций), поджелудочной железе (4 820 на 100 тыс. онкологических операций), толстой кишке (4 038 на 100 тыс. онкологических операций). Из 2 854 810 пациентов, которым проводилась, 400 063 (14 %) имели ИБС, из них у 31 423 (7,8 %) в периоперационном периоде возникло крупное сердечно-сосудистое событие [7].

Цель исследования: провести анализ отдаленных результатов различных стратегий рентгенэндоваскулярного лечения ИБС у пациентов с сопутствующими ЗНО.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А. В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации в период с 01.01.2018 по 31.12.2022 гг. проходили лечение 74 пациента с тяжелой ИБС в сочетании с ЗНО, которым сердечно-сосудистый консилиум методом реваскуляризации определил ЧКВ в связи с прямыми показаниями к рентгенэндоваскулярным вмешательствам, или отказом кардиохирургов от проведения коронарного шунтирования (КШ) из-за невозможности реваскуляризации миокарда или сопутствующей патологии. Все пациенты были обсуждены на мультидисциплинарном консилиуме с участием онкологов, хирургов, сердечно-сосудистых хирургов, рентгенэндоваскулярных хирургов, кардиологов, анестезиологов-реаниматологов. На основании стадии и степени распространенности онкологического процесса, его проявлений и осложнений, а также степени выраженности поражений коронарных артерий и клинической картины ИБС, были определены этапность и последовательность выполнения оперативных вмешательств.

Критериями включения в исследование были: сочетание активного онкологического заболевания и ангиографически значимое (более 75 %) поражение коронарных артерий; согласие пациента или его законного представителя на участие в исследовании после получения соответствующей информации об исследовании.

Критериями исключения из исследования были: наличие противопоказаний к приему двойной антиагрегантной терапии; острые почечная и печеночная недостаточность, острый коронарный синдром (ОКС) на момент госпитализации.

Исходя из выбранной стратегии лечения, пациенты были распределены на три группы:

– группа 1 (39 (52,7 %) пациентов) – этапное лечение: первым этапом выполнялось ЧКВ, вторым – хирургическое лечение онкологического заболевания;

– группа 2 (14 (18,9 %) пациентов) – этапное лечение: первым этапом выполнялось хирургическое лечение онкологического заболевания, а вторым – ЧКВ;

– группа 3 (21 (28,4 %) пациентов) – выполнение ЧКВ и открытого хирургического вмешательства проводилось в один день.

Целесообразность выполнения скорейшей онкологической операции в один день с ЧКВ (группа 3) была обусловлена тяжелым поражением коронарных артерий и злокачественным процессом, осложненным кровотечением, либо в ситуации, ко-

гда нельзя отложить онкологический этап лечения даже на один месяц, поскольку задержка в лечении могла привести к нерезектабельности ЗНО. В запланированный день пациентам в рентгенооперационной в первую очередь выполнялась эндоваскулярная реваскуляризация миокарда, после которой они незамедлительно переводились в хирургический операционный блок для выполнения онкологического вмешательства.

В качестве предоперационного обследования всем пациентам выполняли компьютерную томографию, электрокардиографию, эхокардиографию, ультразвуковое исследование, магнитно-резонансную томографию, селективную коронарографию.

Из 74 пациентов мужчин было 63 (85 %), женщин – 11 (15 %). Средний возраст больных составил $68,8 \pm 7,2$ года (95 % доверительный интервал (ДИ) – 95 % ДИ 67,1–70,5). ИМ в анамнезе имел место у 29 (39,1 %) пациентов, стенокардия напряжения III–IV функционального класса – у 20 (27 %) пациентов.

Как представлено в табл. 1, по основным клиническим характеристикам пациенты трех групп статистически не отличались.

Таблица 1. Клиническая характеристика пациентов

Параметры	Группа 1 (этапное ЧКВ + ОНКО) (n = 39)		Группа 2 (этапное ОНКО + ЧКВ) (n = 14)		Группа 3 (одномоментное ЧКВ + ОНКО) (n = 21)		p
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Мужской пол	35	89,7	11	78,6	17	81,0	0,457
Женский пол	4	10,3	3	21,4	4	19,0	
Возраст, лет	$68,08 \pm 6,86$	-	$67,5 \pm 6,51$	-	$71,00 \pm 8,10$	-	0,25
ИМТ	$26,57$ (23,59–28,56)	-	$27,20$ (25,90–32,81)	-	$25,00$ (23,25–31,38)	-	0,239
Артериальная гипертензия	30	76,9	12	85,7	19	90,5	0,434
Функциональный класс стенокардии							
III–IV класс	12	30,8	3	21,4	5	23,8	0,827
Безболевая форма	19	48,7	5	35,7	13	61,9	0,329
ПИКС	17	43,6	8	57,1	4	19,0	0,059
Нарушения ритма сердца	7	18,4	0	0,0	6	28,6	0,076
Сахарный диабет	9	23,1	5	35,7	7	33,3	0,610
Хроническая болезнь почек, СКФ $\leq 59,9$ мл /мин / $1,73 \text{ м}^2$	8	20,5	5	35,7	6	28,6	0,493

Все 74 пациента имели ангиографически значимые поражения коронарных артерий: при этом однососудистое поражение имело место у 25 (33,8 %), двухсосудистое – у 25 (33,8 %), трехсосудистое – у 24 (32,4 %) пациентов. Поражение ствола левой коронарной артерии наблюдалось у 8 (10,8 %), хроническая окклюзия коронарных артерий была выявлена – у 18 (23,3 %) пациентов.

Самыми распространенными онкологическими заболеваниями были: рак почки – у 12 (16,2 %) пациентов, рак желудка – у 12 (16,2 %), рак простаты – у 11 (14,9 %), колоректальный рак – у 10 (13,5 %), рак легкого – у 9 (12,2 %) (рис. 1). Распределение больных по стадиям опухолевого процесса выглядело следующим образом: I стадия выявлена у 18 (24,3 %) пациентов, II стадия – у 19 (25,7 %), III стадия у – 29

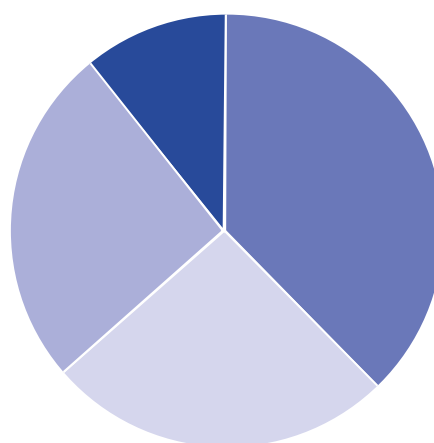
(39,2 %), IV стадия – у 8 (10,8 %) (рис. 2). Отдаленные метастазы наблюдались у 7 (9,5 %) пациентов.

У 74 пациентов было выполнено 150 первичных оперативных вмешательств: 75 – ЧКВ (одному пациенту группы 1 из-за тяжести клинического состояния было выполнено ЧКВ в два этапа: стентирование ПМЖВ и огибающей ветви (ОВ) первым этапом, а далее стентирование правой коронарной артерии (ПКА)) и 75 – хирургических операций по поводу онкологического заболевания (одной пациентке было выполнено лечение первично-множественного рака в два этапа: первым – мастэктомия, вторым – резекция почки).

Из табл. 2 видно, что в группах 1 и 3 были пациенты с более тяжелым поражением коронарных артерий. В группе 1 48,7 % пациентам было выпол-



■ Рак почки	16,2 %
■ Рак желудка	16,2 %
■ Рак простаты	14,9 %
■ Рак толстой кишки	13,5 %
■ Рак легкого	12,2 %
■ Рак пищевода	8,1 %
■ Другие локализации	18,9 %



■ I стадия	25,7 %
■ II стадия	25,7 %
■ III стадия	37,8 %
■ IV стадия	10,8 %

Рис. 1. Характеристика онкологических заболеваний

Рис. 2. Стадии онкологического процесса

Таблица 2. Распределение выполненных ЧКВ по бассейнам

ЧКВ	Группа 1 (этапное ЧКВ + ОНКО) (n = 39)		Группа 2 (этапное ОНКО + ЧКВ) (n = 14)		Группа 3 (одномоментное ЧКВ + ОНКО) (n = 21)	
	n	%	n	%	n	%
Однососудистое	20	51,3	12	85,7	11	52,4
Двухсосудистое	17	43,6	2	14,3	8	38,1
Трехсосудистое	2	5,1	0	0	2	9,5
Ствол ЛКА	1	2,6	0	0	3	14,3

нено двух- и трехсосудистое ЧКВ, а 2,6 % выполнялось стентирование ствола ЛКА. В то время как в группе 3 47,6 % пациентов проводили двух- и трехсосудистое ЧКВ и в 9,5 % случаях – ЧКВ ствола ЛКА.

Из 75 онкологических хирургических вмешательств самыми частыми были: простатэктомия – 11 (14,9 %), резекция желудка – 8 (10,8 %), лобэктомия легкого – 8 (10,8 %), гемиколэктомия – 6 (8,1 %), гастрэктомия – 6 (8,1 %), нефрэктомия – 6 (8,1 %), резекция почки – 6 (8,1 %) (рис. 3).

Медиана промежутка времени между этапом реваскуляризации миокарда и хирургическим онкологическим вмешательством составила 56,0 (41,5–107,0) дней в группе 1 и 42,5 (29,0–76,0) дня – в группе 2 ($p = 0,338$).

Для описания количественных переменных данные объединяли в вариационные ряды и проводили расчет средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD) или медиан (Me) и интерквартильного размаха ($ИКР$) в зависимости от нормальности распределения. Расчет нормальности распределения выполнялся с использованием критерия Шапиро-Уилка. Номинальные данные отмечали с помощью абсолютных величин и процентных долей. В сравнении независимых выборок при наличии нормального распределения исполь-

зовался однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA), в отсутствие нормального распределения использовался критерий Краскела-Уоллиса. Сравнение номинальных данных проводили при помощи критерия χ^2 Пирсона или точного критерия Фишера в зависимости от числа наблюдаемых явлений менее 5. Результаты оценивали как статистически значимые при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

За госпитальный период при проведении 74 больным двухэтапного лечения (150 вмешательств) отмечено 3 (4,0 %) летальных исхода: 2 (5,1 %) – в группе 1, 1 (4,8 %) – в группе 3, причиной которых были осложнения, возникшие после онкологических хирургических вмешательств (табл. 3).

У 1 (2,6 %) пациента группы 1 на 10-е сутки после гастрэктомии возник ОКС с элевацией сегмента ST. Данному пациенту изначально было запланировано одномоментное выполнение ЧКВ и онкологической операции. Однако во время стентирования ПМЖВ голометаллическим стентом возник отек легких, что потребовало перевода пациента в реанимационное отделение. После стабилизации состояния через 3 суток ему была выполнена гастрэктомия на фоне двойной антиагрегантной терапии. После возникновения ОКС пациент был незамедлительно транспортирован в рентгеноперационную, выполнена коронарография, по результатам которой выявлен тромбоз стента ПМЖВ. Произведена успешная реканализация и повторное стентирование артерии с достижением оптимального ангиографического результата [8].

Отдаленные результаты лечения были оценены у 59 (83 %) из 71 пациентов, выписанных из Центра. Анализ проводился на основании амбулаторных осмотров, повторных госпитализаций, данных анкетирования. Длительность периода наблюдения в группе 1 в среднем составила $36,9 \pm 18,7$ мес. (медиана 29,3 [20,6–54,8]; 95 % ДИ 30,8–43,7), в группе 2 – $42,5 \pm 12,8$ мес. (медиана 41,6 [34,8–53,3]; 95 % ДИ 35,1–49,9), в группе 3 – $36,7 \pm 14,1$ мес. (медиана 31,1 [25,3–46,0]; 95 % ДИ 28,6–44,9), ($p = 0,387$).

Всего в отдаленном периоде умерло 15 (25,4 %) пациентов (табл. 4), из которых 11 (18,7 %) от онкологического процесса, а 4 (6,7 %) – от других причин. В группе 1 имело место 8 (25,8 %) смертей, 5 (16,1 %) из которых – от прогрессирования ЗНО, 1 (3,2 %) – от острого нарушения мозгового крово-



Рис. 3. Структура онкологических вмешательств

обращения (ОНМК) геморрагического типа на фоне затяжного гипертонического криза, 1 (3,2 %) – от осложнений новой коронавирусной инфекции, установить причину смерти еще одного пациента не удалось. В группе 2 было зарегистрировано 2 (14,3 %) смерти от прогрессирования ЗНО. В группе 3 имело

место 5 (25,4 %) летальных исходов: 4 (28,6 %) – от прогрессирования онкологического заболевания, 1 (1,7 %) – от кровотечения вследствие осложнения после операции по поводу мочекаменной болезни.

Среди больших сердечно-сосудистых осложнений наблюдались: 1 (3,2 %) ИМ в группе 1

Таблица 3. Госпитальные осложнения после проведения двух этапов лечения

Параметр	Группа 1 (этапное ЧКВ + ОНКО) (n = 39)		Группа 2 (этапное ОНКО + ЧКВ) (n = 14)		Группа 3 (одномоментное ЧКВ + ОНКО) (n = 21)		p
	n	%	n	%	n	%	
Сердечно-сосудистые осложнения							
МАССЕ	1	2,56	0	0,0	0	0,0	–
ИМ	1	2,56	0	0,0	0	0,0	–
ОНМК	0	0,0	0	0,0	0	0,0	–
Хирургические осложнения							
Кровотечения	1	2,56	1	7,1	4	19,0	0,073
Дисфункция органа	2	5,1	0	0,0	3	14,3	–
Инфекционное осложнение	3	7,7	1	7,1	2	9,5	1,0
Повторное хирургическое вмеша- тельство	2	5,1	2	14,3	3	14,3	0,365
Малые осложнения: аритмия, гипотония, брадикардия, анемия	10	25,6	2	14,3	9	42,9	0,177
Летальный исход	2	5,1	0	0,0	1	4,8	–

Таблица 4. Отдаленные результаты лечения

	Группа 1 (этапное ЧКВ + ОНКО) (n = 31)		Группа 2 (этапное ОНКО + ЧКВ) (n = 14)		Группа 3 (одномоментное ЧКВ + ОНКО) (n = 14)		Всего (n = 59)		p
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Смерть от всех причин:	8	25,8	2	14,3	5	35,7	15	25,4	0,387
ОИМ	–	–	–	–	–	–	–	–	–
ОНМК	1	3,2	–	–	–	–	1	1,7	–
ЗНО	5	16,1	2	14,3	4	28,6	11	18,7	0,667
COVID-19	1	3,2	–	–	–	–	1	1,7	–
Кровотечение	–	–	–	–	1	7,1	1	1,7	–
Другие причины	1	3,2	–	–	–	–	1	1,7	–
МАССЕ:	2	6,5	1	7,1	1	7,1	4	6,8	1,0
ОИМ	1	3,2	1	7,1	–	–	2	3,4	–
ОНМК	1	3,2	–	–	1	7,1	2	3,4	–

и 1 (7,1 %) – в группе 2. В обоих случаях пациенты были госпитализированы в стационар, где им было выполнено успешное ЧКВ. Стоит особо отметить, что в отдаленном периоде не было зафиксировано ни одного летального исхода от ИМ.

При анализе общей выживаемости методом Каплан-Мейера (рис. 4) и проведении Log-rank теста различий между группами достоверно не было выявлено ($p = 0,366$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Как правило, пациенты с ЗНО чаще всего исключались из большинства крупных рандомизированных кардиологических исследований и регистров. Ввиду этого информации о влиянии ИБС на онкологических больных в настоящее время недостаточно. Поэтому лечение данной группы больных основывается на опыте отдельных специалистов, клиник.

Раннее выявление с выполнением в последующем назначенного специального лечения онкологического заболевания является основополагающим фактором в увеличении выживаемости этих пациентов [9].

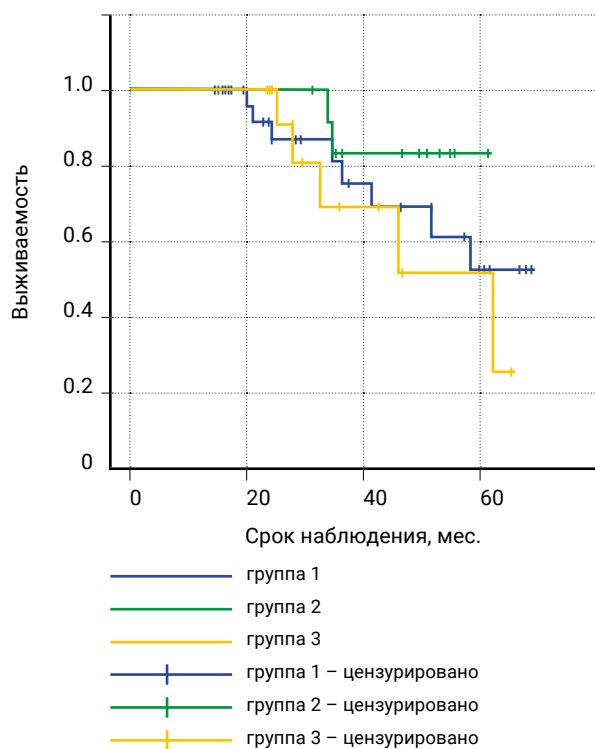


Рис. 4. Кривые выживаемости пациентов по Каплан-Мейеру

Однако у пациентов с сочетанной тяжелой ИБС выполнение оперативного онкологического вмешательства первым этапом сопряжено с риском развития сердечно-сосудистых осложнений. В то же время выполнение скорейшей онкологической операции после ЧКВ на фоне приема пациентами двойной антиагрегантной терапии (ДААТ) ассоциировано с рисками развития интра- и послеоперационных кровотечений. Последние поколения стентов позволили в большей степени решить данную проблему, безопасно сократив прием ДААТ до 1 месяца [10, 11].

В недавно опубликованном исследовании T. Yun и соавт. сравнивали результаты этапного лечения пациентов с ЗНО легкого и сочетанным поражением коронарных артерий. Пациенты были распределены на две группы согласно срокам выполняемых вмешательств: группа 1 – пациенты, которым первым этапом выполняли ЧКВ, а вторым – лобэктомия в сроки до 3 месяцев; группа 2 – пациенты, которым первым этапом выполняли ЧКВ, а вторым – лобэктомия через 3 месяца. Анализ госпитальных результатов показал, что время проведения операции, пребывания в стационаре и кровопотеря достоверно не отличались между группами ($p > 0,05$). Однако, оценивая отдаленные результаты, авторы выявили, что выживаемость в течение 5 лет была достоверно выше у пациентов, которым лобэктомия выполнялась в сроки до 3 месяцев после ЧКВ ($p < 0,05$). Авторы пришли к выводу, что лобэктомия целесообразнее выполнять в раннем периоде после ЧКВ [12].

Действительно, несвоевременное лечение онкологического заболевания может снижать отдаленную выживаемость. Результаты мета-анализа T. P. Nappa и соавт. подтвердили, что задержка в лечении ЗНО даже на 4 недели увеличивает смертность при хирургическом, системном и лучевом методах лечения [13].

В нашем исследовании начало запланированного специального, в том числе хирургического лечения, проводилось как можно раньше. Пациентам со слабоагрессивными формами ЗНО и без осложнений (кровотечение), которым имелась возможность отсрочить выполнение радикального лечения на 4 недели, ЧКВ проводилась с использованием голометаллических стентов (на начальном этапе наших исследований), а в последующем – бесполимерных стентов новейшего поколения (CRE8, CID, Италия) и стентов с биорезорбируемым полимером (Synergy,

Boston Scientific, США) (группа 1). Это позволило безопасно сократить прием ДААТ до 1 месяца и сократить сроки перед выполнением онкологической операции.

В том случае, когда отсрочка в выполнении онкологической операции была ассоциирована с риском быстрого прогрессирования и метастазирования опухолевого процесса, либо имелось ЗНО с рецидивирующими кровотечениями, что в свою очередь не позволяло назначить ДААТ, выполнялось ЧКВ и хирургическое лечение ЗНО в один день (группа 3). Этим пациентам преимущественно (84 %) имплантировались стандартные стенты с лекарственным покрытием (Resolute Integrity, Xience Xpedition, Promus Premier).

Несмотря на различия в сроках выполнения онкологических вмешательств в каждой группе по смертям от всех причин, и в том числе от прогрессирования ЗНО, достоверных различий между группами выявлено не было ($p = 0,387$ и $p = 0,667$ соответственно).

В лечении пациентов с онкологическим заболеванием в сочетании с ИБС важно не только тщательное периоперационное ведение таких больных, но и последующая реабилитация и курация их после оперативных вмешательств, особенно в ближайшем послеоперационном периоде. В работе W. Guo и соавт. исследовали развитие больших сердечно-сосудистых событий в отдаленном периоде у онкологических и неонкологических пациентов, перенесших ЧКВ. Анализ показал, что у онкологических пациентов в течение 5 лет чаще имели место острый ИМ (16,1 % против 8,0 %; $p < 0,001$), тромбоз стента (6,0 % против 2,3 %; $p < 0,001$), повторная реваскуляризация (21,2 % против 10,0 %; $p < 0,001$). Необходимо отметить, что чаще всего имел место поздний тромбоз стента (52 %), что определяет значимость первого года после ЧКВ у данной группы больных [14].

В нашем исследовании имело место два случая острого ИМ: первый – у пациентки через 601 день после ЧКВ возник ОКС с подъемом сегмента ST вследствие тромбоза ранее имплантированного стента с лекарственным покрытием в ПМЖВ на фоне заболевания новой коронавирусной инфек-

цией (COVID-19). В экстренном порядке пациентке были выполнены реканализация и стентирование ПМЖВ. У второго пациента через 867 дней имел место ОКС без подъема сегмента ST. Данному пациенту была выполнена баллонная ангиопластика и стентирование стеноза «de novo» в ПМЖВ. Важно подчеркнуть, что в нашем исследовании в отдаленном периоде от острого ИМ не умер ни один пациент, что еще раз подчеркивает необходимость реваскуляризации миокарда у этой группы больных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В отдаленном периоде выявлено 15 (25,4 %) летальных исходов, 11 (73,3 %) из которых были связаны с прогрессированием онкологического заболевания.
2. В отдаленном периоде наблюдения только у 1 (1,7 %) из 71 пациента имел место летальный исход, связанный с сердечно-сосудистым событием (ОНМК по геморрагическому типу). Острый ИМ возник только у 2 (3,4 %) пациентов и был успешно пролечен стентированием инфаркт-связанной артерии.
3. Не было выявлено достоверной разницы между тремя группами по таким показателям, как смерть от всех причин ($p = 0,387$) и онкологическая смертность ($p = 0,667$).
4. В отдаленном периоде не было зафиксировано ни одного летального исхода от ИМ, что подтверждает важность и целесообразность выполнения реваскуляризации миокарда у пациентов со значимым поражением коронарных артерий и сопутствующим ЗНО.
5. Чрескожное коронарное вмешательство у пациентов с онкологическими заболеваниями позволяет эффективно и безопасно выполнить хирургическое лечение злокачественной патологии без кардиальной смертности как на госпитальном, так и в отдаленном периодах наблюдения.
6. Этапность лечения пациентов с ИБС в сочетании с ЗНО должна определяться решением консилиума мультидисциплинарной команды.

Список источников

1. 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, 2022, 252 с.

2. Benjamin EJ, Muntner P, Alonso A, Bittencourt MS, Callaway CW, Carson AP, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2019 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2019 Mar 5;139(10):e56–e528. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000659>
3. Al-Kindi SG, Oliveira GH. Prevalence of Preexisting Cardiovascular Disease in Patients With Different Types of Cancer: The Unmet Need for Onco-Cardiology. *Mayo Clin Proc*. 2016 Jan;91(1):81–83. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2015.09.009>
4. Sturgeon KM, Deng L, Bluethmann SM, Zhou S, Trifiletti DM, Jiang C, et al. A population-based study of cardiovascular disease mortality risk in US cancer patients. *Eur Heart J*. 2019 Dec 21;40(48):3889–3897. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz766>
5. Состояние онкологической помощи населению России в 2022 году. Под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, А. О. Шахзадовой. М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2022, 239 с.
6. Smilowitz NR, Gupta N, Ramakrishna H, Guo Y, Berger JS, Bangalore S. Perioperative Major Adverse Cardiovascular and Cerebrovascular Events Associated With Noncardiac Surgery. *JAMA Cardiol*. 2017 Feb 1;2(2):181–187. <https://doi.org/10.1001/jamacardio.2016.4792>
7. Ramamoorthy V, Chan K, Appunni S, Zhang Z, Ahmed MA, McGranaghan P, et al. Prevalence and trends of perioperative major adverse cardiovascular and cerebrovascular events during cancer surgeries. *Sci Rep*. 2023 Feb 10;13(1):2410. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-29632-7>
8. Алесян Б. Г., Грицкевич А. А., Ручкин Д. В., Кригер А. Г., Печетов А. А., Карапетян Н. Г. и др. Непосредственные результаты чрескожных коронарных вмешательств и хирургического лечения пациентов с онкологическими заболеваниями в сочетании с ишемической болезнью сердца. *Эндоваскулярная хирургия*. 2023;10(2):129–139. <https://doi.org/10.24183/2409-4080-2023-10-2-129-139>
9. Khorana AA, Tullio K, Elson P, Pennell NA, Grobmyer SR, Kalady MF, et al. Time to initial cancer treatment in the United States and association with survival over time: An observational study. *PLoS One*. 2019;14(3):e0213209. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213209>
10. Urban P, Meredith IT, Abizaid A, Pocock SJ, Carrié D, Naber C, et al. Polymer-free Drug-Coated Coronary Stents in Patients at High Bleeding Risk. *N Engl J Med*. 2015 Nov 19;373(21):2038–2047. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1503943>
11. Pivato CA, Reimers B, Testa L, Pacchioni A, Briguori C, Musto C, et al. One-Month Dual Antiplatelet Therapy After Bioresorbable Polymer Everolimus-Eluting Stents in High Bleeding Risk Patients. *J Am Heart Assoc*. 2022 Mar 15;11(6):e023454. <https://doi.org/10.1161/JAHA.121.023454>
12. Yun T, Tang Y, Yang B, Li K, Liang T, Yin D, et al. Comparison of perioperative characteristics and prognostic performance in patients with pulmonary lobectomy in early or later period after percutaneous coronary intervention. *Transl Cancer Res*. 2019 Sep;8(5):2073–2078. <https://doi.org/10.21037/tcr.2019.09.23>
13. Hanna TP, King WD, Thibodeau S, Jalink M, Paulin GA, Harvey-Jones E, et al. Mortality due to cancer treatment delay: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2020 Nov 4;371:m4087. <https://doi.org/10.1136/bmj.m4087>
14. Guo W, Fan X, Lewis BR, Johnson MP, Rihal CS, Lerman A, et al. Cancer Patients Have a Higher Risk of Thrombotic and Ischemic Events After Percutaneous Coronary Intervention. *JACC Cardiovasc Interv*. 2021 May 24;14(10):1094–1105. <https://doi.org/10.1016/j.jcin.2021.03.049>

Информация об авторах:

Алесян Баграт Гегамович – д.м.н., профессор, академик РАН, заместитель директора по науке, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А. В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация; профессор кафедры ангиологии, сердечно-сосудистой, эндоваскулярной хирургии и аритмологии им. академика А. В. Покровского, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6509-566X>, SPIN: 1544-2818, AuthorID: 681349, ResearcherID: F-2662-2014, Scopus Author ID: 6603583917

Грицкевич Александр Анатольевич – д.м.н., главный внештатный онколог, заведующий отделением урологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А. В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5160-925X>, SPIN: 2128-7536, AuthorID: 816947, Scopus Author ID: 57194755867

Карапетян Нарек Григорьевич – к.м.н., доцент, рентгенэндоваскулярный хирург отделения рентгенэндоваскулярной хирургии, Медицинский центр «Эребуни», г. Ереван, Республика Армения
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7623-8635>, SPIN: 6308-9349, AuthorID: 686595, Scopus Author ID: 57211659097

Ручкин Дмитрий Валерьевич – д.м.н., заведующий отделением реконструктивной хирургии пищевода и желудка, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А. В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9068-3922>, SPIN: 2587-8568, AuthorID: 187888, Scopus Author ID: 7003463000

Печетов Алексей Александрович – к.м.н., заведующий отделением торакальной хирургии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А. В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1823-4396>, SPIN: 8705-6005, AuthorID: 750726

Марков Павел Викторович – д.м.н., заведующий отделением абдоминальной хирургии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А. В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9074-5676>, SPIN: 6808-9492, AuthorID: 378246, Scopus Author ID: 23473992600

Гурмиков Беслан Нуралиевич – д.м.н., доцент, заведующий онкологическим отделением хирургических методов лечения, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А. В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5958-3608>, SPIN: 1322-3629, AuthorID: 727742, Scopus Author ID: 57211081722

Иродова Наталья Львовна – к.м.н., врач-кардиолог отдела рентгенэндоваскулярной хирургии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А. В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1372-5639>, SPIN: 1750-6982, AuthorID: 940973, Scopus Author ID: 6507158989

Гёлецын Лили Генриковна – к.м.н., врач-кардиолог отдела рентгенэндоваскулярной хирургии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А. В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4023-4317>, SPIN: 8875-6000, AuthorID: 887078, Scopus Author ID: 57869351700

Токмаков Евгений Васильевич – врач анестезиолог-реаниматолог отделения анестезиологии и реанимации, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А. В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2821-0865>, SPIN: 6851-2389, AuthorID: 963361

Галстян Артур Варужанович ✉ – аспирант отдела рентгенэндоваскулярной хирургии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А. В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1142-6763>, SPIN: 1783-8075, AuthorID: 1145819

Ревивили Амиран Шотаевич – д.м.н., профессор, академик РАН, директор, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А. В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1791-9163>, SPIN: 8181-0826, AuthorID: 419879, Scopus Author ID: 7003940753

Вклад авторов:

Алекян Б. Г. – научное руководство, выполнение эндоваскулярного этапа лечения, вклад в концепцию и дизайн исследования, получение и интерпретация данных исследования, написание статьи, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации;
Грицкевич А. А. – научное руководство, выполнение хирургического этапа лечения, вклад в концепцию и дизайн исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации;
Карапетян Н. Г. – выполнение эндоваскулярного этапа лечения, вклад в концепцию и дизайн исследования, получение и интерпретация данных исследования, корректировка статьи;
Ручкин Д. В. – выполнение хирургического этапа лечения, корректировка статьи;
Печетов А. А. – выполнение хирургического этапа лечения, корректировка статьи;
Марков П. В. – выполнение хирургического этапа лечения, корректировка статьи;
Гурмиков Б. Н. – выполнение хирургического этапа лечения, корректировка статьи;
Иродова Н. Л. – ведение пациентов, вклад в концепцию и дизайн исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации;
Гёлецын Л. Г. – ведение пациентов, вклад в концепцию и дизайн исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации;
Токмаков Е. В. – обеспечение анестезиологического пособия на эндоваскулярном этапе лечения, корректировка статьи;
Галстян А. В. – ассистирование на эндоваскулярном этапе лечения, получение, анализ и интерпретация данных исследования, написание статьи;
Ревивили А. Ш. – вклад в концепцию и дизайн исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации.

Клеточные, геномные и транскриптомные эффекты вторичных метаболитов Белокопытника гибридного на клеточную линию HeLa

Е. Ю. Златник¹, Я. С. Енин^{1✉}, О. Н. Буров², Е. С. Бондаренко¹, А. Б. Сагакянц¹, Д. С. Кутилин¹,
Ю. В. Дзигунова², И. А. Новикова¹, Ю. В. Пржедецкий¹

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

² ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет», г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

✉ Dendro51@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Оценить клеточные, геномные (копийность генов) и транскриптомные (экспрессия генов) эффекты вторичных метаболитов *P. hybridus* (L.) при их воздействии на клеточную линию HeLa.

Материалы и методы. Выделение вторичных метаболитов из растительного материала и его идентификацию проводили методом препаративной хроматографии, определение состава – с помощью масс-спектрометрического анализа, окончательную верификацию структурных формул – методом ядерно-магнитного резонанса на кафедре природных соединений химического факультета ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет». Следующую часть исследования выполняли с использованием культуральных и молекулярных методов. Культивирование HeLa проводили в стандартных условиях в среде MEM. При достижении 75–80 % уровня конфлюэнтности заменяли питательную среду с внесением исследуемых соединений (в концентрации 4 мкг/мл) и культивировали 72 ч. Смертность клеток определяли на счетчике NanoEnTek JuliFI (Корея) в присутствии 0,4 % трипанового синего. Оценку апоптоза после воздействия вторичных метаболитов проводили на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto II с помощью FITC Annexin V Apoptosis Detection Kit I. Оценку уровня копийности и экспрессии генов, ответственных за апоптоз, выполняли методом цифровой капельной полимеразной цепной реакции (ПЦР) (DD-PCR).

Результаты. Были выделены и верифицированы следующие соединения, которым для упрощения использования в эксперименте были присвоены порядковые номера: № 2 – 2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one, № 3 – 5-(hydroxymethyl)furan-2-carbaldehyde, № 5.3 – 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde *P. hybridus* (L.). На этапе оценки клеточной гибели было обнаружено, что наибольший эффект достигается у соединения под порядковым № 2. Однако оценка показателей копийности и экспрессии генов *CASP8*, *CASP9*, *CASP3*, *BAX*, *BCL2*, *TP53*, *MDM2*, *CDKN1B*, *CDK1*, *CCND1*, *CCND3* и *RB1* методом DD-PCR выявила наличие инициации апоптоза в опухолевых клетках на молекулярном уровне под действием соединений под № 2 и № 5.3, полученных из *P. hybridus* (L.).

Заключение. Получены результаты разнонаправленного характера. Из всех использованных в эксперименте соединений выраженный цитостатический эффект выявлен только у соединения 2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one. В то же время при использовании соединения 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde выявлено увеличение экспрессии генов *CASP3*, *CASP8*, *TP53*, *BAX*.

Ключевые слова: вторичные метаболиты растений, апоптоз, экспрессия генов, копийность генов, клеточная линия HeLa, цифровая капельная ПЦР

Для цитирования: Златник Е. Ю., Енин Я. С., Буров О. Н., Бондаренко Е. С., Сагакянц А. Б., Кутилин Д. С., Дзигунова Ю. В., Новикова И. А., Пржедецкий Ю. В. Клеточные, геномные и транскриптомные эффекты вторичных метаболитов Белокопытника гибридного на клеточную линию HeLa. Южно-Российский онкологический журнал. 2024; 5(3): 50-63. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-3-5>, <https://elibrary.ru/koukit>

Для корреспонденции: Енин Ярослав Сергеевич – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии 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: Dendro51@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4572-1579>

SPIN: 7683-2286, AuthorID: 840050

Scopus Author ID: 57196464479

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось. Работа выполнена с использованием научного оборудования ЦКП ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации: <https://ckp-rf.ru/catalog/ckp/3554742/>

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

Статья поступила в редакцию 19.06.2024; одобрена после рецензирования 07.08.2024; принята к публикации 25.08.2024

© Златник Е. Ю., Енин Я. С., Буров О. Н., Бондаренко Е. С., Сагакянц А. Б., Кутилин Д. С., Дзигунова Ю. В., Новикова И. А., Пржедецкий Ю. В., 2024

Cellular, genomic and transcriptomic effects of secondary metabolites of the Hybrid Butterbur on the HeLa cell line

E. Yu. Zlatnik¹, Ya. S. Enin^{1✉}, O. N. Burov², E. S. Bondarenko¹, A. B. Sagakyants¹, D. S. Kutilin¹, Yu. V. Dzigunova², I. A. Novikova¹, Yu. V. Przhedetskiy¹

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

² Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russian Federation

✉ Dendro51@yandex.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. To evaluate the cellular, genomic (gene copy number) and transcriptomic (gene expression) effects of *Phybridus* (L.) secondary metabolites when they affect the HeLa cell line.

Materials and methods. The isolation of secondary metabolites from plant material and its identification were carried out by preparative chromatography. The composition was determined using mass spectrometric analysis, and the final verification of structural formulas was carried out by nuclear magnetic resonance at the Department of Natural Compounds, the Faculty of Chemistry of the Southern Federal University. The subsequent phase of the study was conducted using both cultural and molecular methods. HeLa cells were cultivated under standard conditions in a MEM medium. Once the confluence level was reached 75–80 %, the nutrient medium was replaced with the introduction of the studied compounds (at a concentration of 4 micrograms/ml) and cultivated for 72 hours. Cell mortality was determined using a NanoEnTek JuliFI counter (Korea) in the presence of 0.4 % trypan blue. The assessment of apoptosis following secondary metabolite exposure was conducted on a BD FACSCanto II flow cytometer using the FITC Annexin V Apoptosis Detection Kit I. The level of replication and expression of the genes responsible for apoptosis was assessed by digital droplet PCR (ddPCR).

Results. The following compounds were isolated and verified, and were assigned the following sequence numbers to facilitate their use in the experiment: No. 2 – 2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one, No. 3 – 5-(hydroxymethyl) furan-2-carbaldehyde, No. 5.3 – 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde, *P. hybridus* (L.). At the stage of cell death assessment, it was found that the greatest effect was achieved in the compound under ordinal No. 2. However, the evaluation of the copy number and expression of the *CASP8*, *CASP9*, *CASP3*, *BAX*, *BCL2*, *TP53*, *MDM2*, *CDKN1B*, *CDK1*, *CCND1*, *CCND3*, and *RB1* genes by DD-PCR revealed the presence of apoptosis initiation in tumor cells at the molecular level under the action of compounds No. 2 and No. 5.3 obtained from *P. hybridus* (L.).

Conclusion. The outcomes were multifaceted. Only compound 2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one exhibited a pronounced cytostatic effect out of all compounds utilized in the experiment. Concurrently, the compound 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde was found to induce an increase in the expression of the *CASP3*, *CASP8*, *TP53*, and *BAX* genes.

Keywords: secondary plant metabolites, apoptosis, gene expression, copy number variation, HeLa cell line, digital droplet PCR

For citation: Zlatnik E. Yu., Enin Ya. S., Burov O. N., Bondarenko E. S., Sagakyants A. B., Kutilin D. S., Dzigunova Yu. V., Novikova I. A., Przhedetskiy Yu. V. Cellular, genomic and transcriptomic effects of secondary metabolites of the Hybrid Butterbur on the HeLa cell line. South Russian Journal of Cancer. 2024; 5(3): 50-63. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-3-5>, <https://elibrary.ru/koukit>

For correspondence: Yaroslav S. Enin – Junior Researcher, Laboratory of Molecular 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: Dendro51@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4572-1579>
SPIN: 7683-2286, AuthorID: 840050
Scopus Author ID: 57196464479

Funding: this work was not funded. The work was performed with scientific equipment provided by the Central Research Institute of the National Medical Research Center for Oncology: <https://ckp-rf.ru/catalog/ckp/3554742/>

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

The article was submitted 19.06.2024; approved after reviewing 07.08.2024; accepted for publication 25.08.2024

ВВЕДЕНИЕ

Рак шейки матки (РШМ) является одной из основных причин женской смертности. Каждый год выявляют более 528 тыс. новых случаев РШМ и более 266 тыс. летальных исходов от этого заболевания [1, 2]. Клеточная линия HeLa представляет из себя очень удобный и простой объект для проведения модельных экспериментов в условиях *in vitro*. Данная клеточная линия была получена 8 февраля 1951 г. из опухоли шейки матки пациентки по имени Генриетта Лакс в больнице Балтимора [3]. В нашем исследовании мы использовали эту клеточную линию для оценки цитотоксического эффекта полученных нами органических соединений растительного происхождения.

Растения синтезируют огромное количество вторичных метаболитов, и фактически именно эти метаболиты составляют основу многих коммерческих фармацевтических препаратов, а также растительных лекарственных средств. Многие вторичные метаболиты, такие как алкалоиды, терпеноиды и фенилпропаноиды, рассматриваются для разработки лекарств [4].

Вторичные метаболиты растений представляют собой структурно разнообразные соединения, которые не принимают непосредственного участия в росте, развитии и размножении растений, а чаще выполняют защитную функцию. Эти соединения с различной химической структурой могут действовать как потенциальные многоцелевые противоопухолевые средства [5]. Впервые в истории термин вторичных метаболитов был предложен немецким биологом Альбрехтом Кёсселем в 1891 г., когда он прочел лекцию «О химическом составе клеток» для Берлинского общества физиологов, в которой говорил: «Я предлагаю называть соединения, имеющие важность для каждой клетки, первичными, а соединения, не присутствующие в любой растительной клетке – вторичными» [6]. В настоящее время вторичные метаболиты растений разделяются на несколько крупных групп. Терпеноиды (изопrenoиды) охватывают более 40 000 структур и образуют самый большой класс всех известных растительных метаболитов. Представляют собой класс углеводов – продуктов биосинтеза общей формулы $(C_5H_8)_n$, с углеродным скелетом, являющимся производным изопрена $CH_2=C(CH_3)-CH=CH_2$. Алкалоиды характеризуются как гетероциклические соединения, содержащие в гетероцикле молекулу азота и насчитывающие 21 000 соединений. Фенольные соединения – это ароматиче-

ские соединения с бензольным кольцом, содержащие по меньшей мере одну гидроксильную группу [7].

Вид, выбранный в нашей работе для выделения вторичных метаболитов – Белокопытник гибридный *Petasites hybridus* (L.) Gaertn., B. Mey. & Scherb – это травянистое многолетнее растение семейства астровые (*Asteraceae*), встречающееся на европейской территории России и, в частности, в Краснодарском крае и Республике Адыгея. Причины интереса к данному виду состоят в том, что различные представители рода белокопытник *Petasites*, включая и сам *P. hybridus* (L.) содержат соединения, обладающие цитотоксическим действием на опухолевые клетки различных нозологий [8]. Так в Белокопытнике японском *Petasites japonicus* (Siebold & Zucc.) Maxim. были обнаружены сесквитерпен I и сесквитерпен II, которые показали цитотоксический эффект в отношении как опухолевых клеток астроцитомы человека U-251MG, так и клеточной линии MDA-MB-231 рака молочной железы [9].

Для изучения влияния вторичных метаболитов растений на опухолевые клетки применяются различные методические подходы, включая цитометрию и проточную цитофлуориметрию, модельные эксперименты на клеточных культурах и молекулярно-генетические исследования. К последним относится оценка уровня копийности и экспрессии генов. Копийность (CNV, copy number variation) – разновидность генетического полиморфизма, приводящая к изменению числа определенных генетических локусов и, как следствие, изменению экспрессии этих генов и их продуктов – белков и некодирующих РНК [10]. Исследования влияния вторичных метаболитов растений на экспрессию и копийность генетических локусов, регулирующих апоптоз и клеточный цикл при раке шейки матки, в настоящее время немногочисленны, поэтому этот аспект требует дополнительного изучения. Этому и посвящена данная работа.

Цель исследования: оценить клеточные, геномные (копийность генов) и транскриптомные (экспрессия генов) эффекты вторичных метаболитов *P. hybridus* (L.) при их воздействии на клеточную линию HeLa.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экстракция метаболитов. Первичный растительный материал собирали и определяли при участии сотрудников кафедры ботаники академии биологии и биотехнологии им. Д. И. Ивановского,

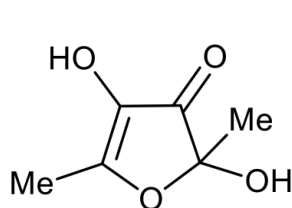
ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет». Экстракцию и верификацию вторичных метаболитов *P. hybridus* (L.) осуществляли сотрудники кафедры природных и высокомолекулярных соединений химического факультета ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет». В качестве растворителя для первичной экстракции был использован тетрахлорэтилен, которым заливались механически очищенные и измельченные корневища.

Процесс первичной экстракции продолжали в течение четырех месяцев. Для извлечения тетрахлорэтилена из растительного материала применяли метод декантации, с последующей концентрацией раствора путем отгонки растворителя в перегонной установке. В качестве сольвента был использован тетрахлорэтилен для уменьшения количества полярных соединений (моно- и дисахариды, аминсахара и др.). Следующим этапом было разделение полученного концентрированного раствора при помощи колоночной хроматографии с использованием силикагеля в качестве сорбента на колонке 20*2. Использовались различные элюенты: сначала тетрахлорэтилен, что позволило получить 10 фракций различного цвета, от бесцветного до светло-желтого. Затем применялся хлористый метилен, давший еще 10 фракций. После этого элюент был изменен, и колонка была заполнена смесью хлористого метилена и спирта в соотношении 10/1, что привело к получению еще двух фракций. Все фракции подвергались концентрации методом упаривания на ротационном испарителе.

Для идентификации выделенных соединений применялся метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-детектированием. Масс-спектры анализировались с использованием библиотеки NIST 2011, содержащей данные по алкалоидам и другим биологически активным соединениям.

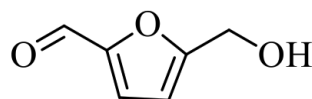
Из дальнейшей работы были исключены фракции, содержащие высшие жирные кислоты, азотистые основания нуклеиновых кислот и их гликозидов. Далее проводили дополнительную очистку выделенных ранее фракций методом колоночной хроматографии и производилась идентификация очищенных соединений методом ядерного магнитного резонанса (ЯМР ^1H). Идентификация очищенных фракций методом ЯМР позволила определить чистоту и подтвердить структуру соединений, ранее предположенных методом хроматографии с масс-детектированием. Для упрощения использования в эксперименте выделенным соединениям были присвоены следующие порядковые номера: № 2 – 2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one, № 3 – 5-(hydroxymethyl)furan-2-carbaldehyde, № 5.3 – 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde (рис. 1).

Оценка биологического действия. Оценку биологического действия выделенных соединений проводили на клеточной линии HeLa CCL2. Клеточная линия была получена из биобанка ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, который работает в соответствии с рекомендациями по организации структуры биорепозитория и этическими требованиями последнего издания «Передовых практик ISBER»



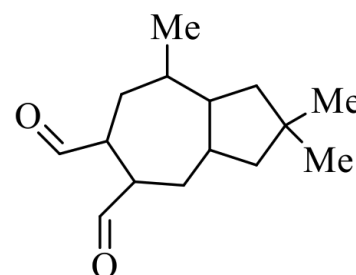
2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one (2)

Chemical Formula: $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_4$
 Molecular Weight: 144,13



5-(hydroxymethyl)furan-2-carbaldehyde (3)

Chemical Formula: $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3$
 Molecular Weight: 126,11



2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde (5.3)

Chemical Formula: $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_2$
 Molecular Weight: 236,3499

Рис. 1. Структурные формулы трех соединений, выделенных из Белокопытника гибридного *P. hybridus* (L.)

и на основе стандарта ISO 9001 [11]. Клетки культивировали при 37 °C и 5 % CO₂ в питательной среде Игла MEM (БиолоТ), содержащей 10 % фетальную сыворотку коров (HyClone, США), до количества 1×10^6 клеток. При достижении конfluence 80 % питательную среду заменяли на аналогичную с внесением 4 мкг/мл производных фурфуrolа и азулена в опытные образцы, и без добавления исследуемых веществ в отрицательном контроле. Время экспозиции составляло 72 часа. После чего клетки снимались с культуральных флаконов 0,1 % раствором трипсина. Определение количества живых и мертвых клеток проводили на автоматическом счетчике NanoEnTek JuliFI (Корея) с окрашиванием 0,4 % трипановым синим. Снятые с культуральных флаконов клетки консервировали в РНК-среде (IntactRNA Евроген). Клеточный апоптоз оценивали на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto II с помощью набора FITC Annexin V Apoptosis Detection Kit I. Клетки, сохраненные в РНК среде, делились на две равные аликвоты, из которых экстрагировали суммарные препараты ДНК/РНК с использованием коммерческого набора «ДНК-сорб-В» и Тризола соответственно.

Молекулярные методы. Оценку показателей копийности и экспрессии проводили методом цифровой капельной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием набора «QX200™ ddPCR™ EvaGreen Supermix» (Bio-Rad, USA). Система капельной цифровой ПЦР Droplet Digital (ddPCR™) была разработана для высокоточного абсолютного количественного анализа целевых последовательностей нуклеиновых кислот, инкапсулированных в дискретные капли водно-масляной эмульсии, определяемые волюмометрическим методом. С помощью генератора капель каждый образец

исследуемого локуса в трех повторах был разделен на 20 000 капель. Амплификацию проводили до конечной точки (составляла 40 циклов) на термоблокере C1000 Touch Thermal Cycler Bio-Rad.

После завершения амплификации плашка с образцами помещалась ридер QX200 Bio-Rad, который осуществлял подсчет капель, дающих флуоресцентные положительные и отрицательные сигналы, для расчета концентрации целевой ДНК и кДНК. Принцип измерения уровня показателей копийности и экспрессии с помощью технологии цифровой капельной ПЦР заключался в прямом подсчете событий по каналу FAM. В положительных каплях, содержащих как минимум одну копию ДНК-мишени, считыватель капель показывает флуоресценцию в отличие от отрицательных капель, в которых не происходило амплификации. Программное обеспечение QuantaSoft v1.7.4 измеряет количество положительных и отрицательных капель в каждом образце, а затем применяет алгоритм вычисления функции распределения Пуассона для определения начальной концентрации целевых молекул ДНК в единицах «копий/мкл» (рис. 2).

Расчет уровня копийности и экспрессии производился следующим образом. По формуле концентрация каждого исследуемого локуса / концентрация референсного локуса × число копий референсных локусов в геноме (как правило 2).

Статистическая обработка данных была проведена с использованием программы Statistica 19.0 (StatSoft Inc., США). Для оценки значимости различий использовали однофакторный дисперсионный анализ (критический уровень статистической значимости $p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На первом этапе исследования была проведена очистка и верификация соединений, которые могут проявлять цитотоксическое действие на опухолевые клетки различных нозологий. Идентификация выделенных соединений была выполнена методами масс-спектрометрии и ядерного магнитного резонанса (ЯМР); в ходе нее был верифицирован 2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one, которому был присвоен порядковый номер 2,5-(hydroxymethyl) furan-2-carbaldehyde под порядковым номером 3, а также 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde под порядковым номером 5.3. Все три соединения выделены из корневищ *P. hybridus* (L.). Данные,

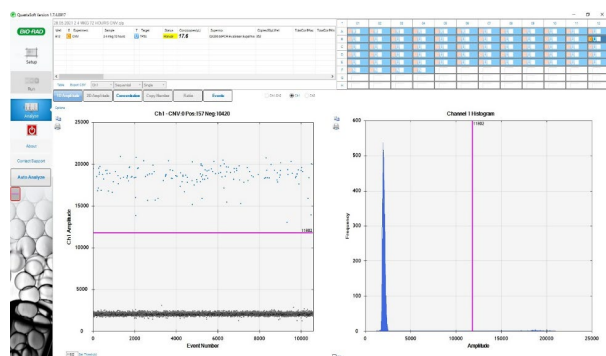


Рис. 2. Скриншот программного обеспечения QuantaSoft v1.7.4 во время обработки результатов

полученные при оценке цитотоксического действия участвующих в эксперименте соединений на счетчике клеток NanoEnTek JuliFI, представлены в табл. 1.

Как видно из представленных в табл. 1 данных, все соединения по результатам теста трепанового синего оказали примерно равнозначный эффект на опухолевые клетки HeLa; в опытных пробах количество погибших клеток превышало контроль в 1,97–2,44 раза. На представленных ниже снимках, полученных с помощью инвертированного микроскопа (Leica DM IL LED) приводится сравнение контрольной пробы клеточной линии HeLa с пробой, обработанной соединением № 2. После воздействия видно нарушение монослоя в опытной пробе, связанное с более слабым прикреплением клеток либо с ее лизисом, наблюдается «ошаривание» большого количества клеток (рис. 3).

Следующие снимки показывают эффект, достигнутый при воздействии соединения № 3 в сравнении с контролем, наблюдается плотный монослой клеток, в то же время большое количество ошаривающихся клеток (рис. 4).

На рисунке 5 представлено сравнение контроля клеток линии HeLa с клетками, которые были подвержены воздействию соединения 5.3, в опытной пробе отмечается плотный монослой клеток и увеличение количества ошаривающихся клеток, которое превышает наблюдаемое в контроле.

Результаты оценки противоопухолевого воздействия использованных нами метаболитов также подтверждаются данными проточной цитофлуориметрии, представленными ниже.

Наиболее выраженное цитотоксическое действие показал (2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one) под № 2 в концентрации 4 мкг/мл при экспозиции 72 ч. Остальные использованные соединения не обладали таким действием по данным проточной цитофлуориметрии (рис. 6–8, табл. 2).

Как видно из рисунка 6, 72-часовая инкубация с (2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one) оказало

цитостатический эффект на клетки линии HeLa, выражающийся в повышении количества клеток в состоянии раннего апоптоза с 7,2 до 13,3 %, а позднего апоптоза – с 5,8 до 8,3 %. Суммарное количество клеток в состоянии апоптоза после воздействия (2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one) повышается в 1,6 раза.

Исходя из данных на рис. 7, следует, что 72-часовая инкубация с 5-(hydroxymethyl)furan-2-carbaldehyde не оказала цитотоксического эффекта на клетки линии HeLa, разница с контролем в раннем апоптозе изменилась с 7,2 до 7,3 %, а позднего апоптоза – с 5,8 до 6,2 %. Суммарное количество клеток в состоянии апоптоза после воздействия 5-(hydroxymethyl)furan-2-carbaldehyde повышается в 0,5 раз.

Рис. 8 демонстрирует, что 72-часовая инкубация с 5-(hydroxymethyl)furan-2-carbaldehyde также не оказала цитотоксического эффекта на клетки линии HeLa, разница с контролем в раннем апоптозе изменилась с 7,2 до 7,5 %, а позднего апоптоза – с 5,8 до 6,8 %. Суммарное количество клеток культуры в состоянии апоптоза после воздействия 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde повышается в 1,3 раза.

Методом цифровой капельной ПЦР были оценены изменения показателей копийности и экспрессии (CNV/EXP) под воздействием выделенных нами вторичных метаболитов из *P. hybridus* (L.). При воздействии 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde в концентрации 4 мкг/мл экспозиция 72 ч. наблюдались увеличения уровня экспрессии *CASP3* по отношению к контролю в 28,28 раз ($p < 0,05$), а *CASP8* в 46,71 раз ($p < 0,05$). В то же время экспрессия локуса *CASP9* увеличилась в 3,43 раза ($p < 0,05$). Воздействие 5-(hydroxymethyl)furan-2-carbaldehyde в концентрации 4 мкг/л и экспозиции 72 ч. оказало следующий эффект, уровень экспрессии *CASP3* относительно контроля увеличился в 4,57 раза

Таблица 1. Количество живых и мертвых клеток линии HeLa после воздействия выделенными вторичными метаболитами после окраски трипановым синим

Соединение, концентрации	72 часа, живые клетки	72 часа, мертвые клетки
Контроль	93,52 %	6,48 %
№ 2, 4 мкг/мл	87,23 %	12,77 %
№ 3, 4 мкг/мл	86,66 %	13,34 %
№ 5.3, 4 мкг/мл	84,16 %	15,84 %

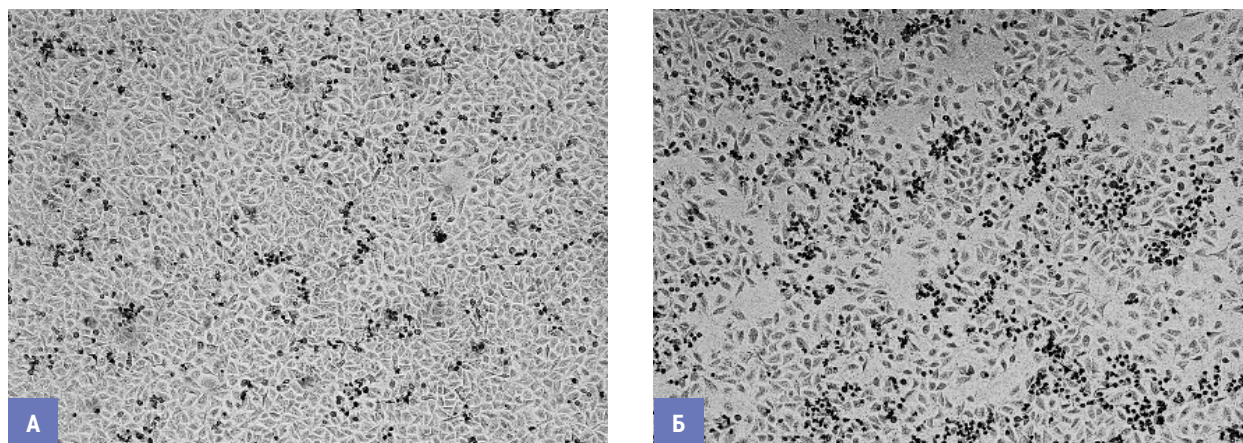


Рис. 3. Клетки HeLa после воздействия 2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one. А – контроль; Б – опыт

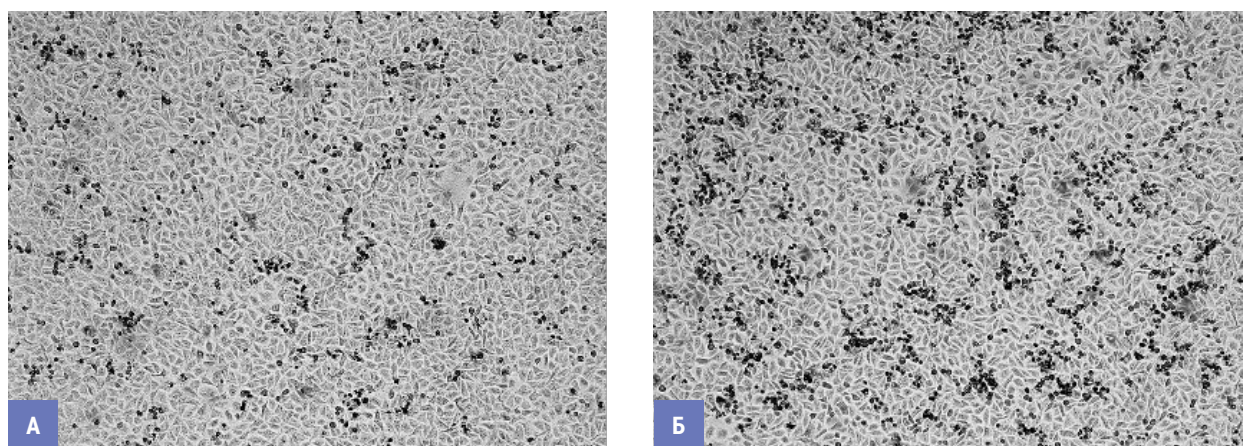


Рис. 4. Клетки HeLa при воздействии терпеноидом 5-(hydroxymethyl)furan-2-carbaldehyde. А – контроль; Б – опыт

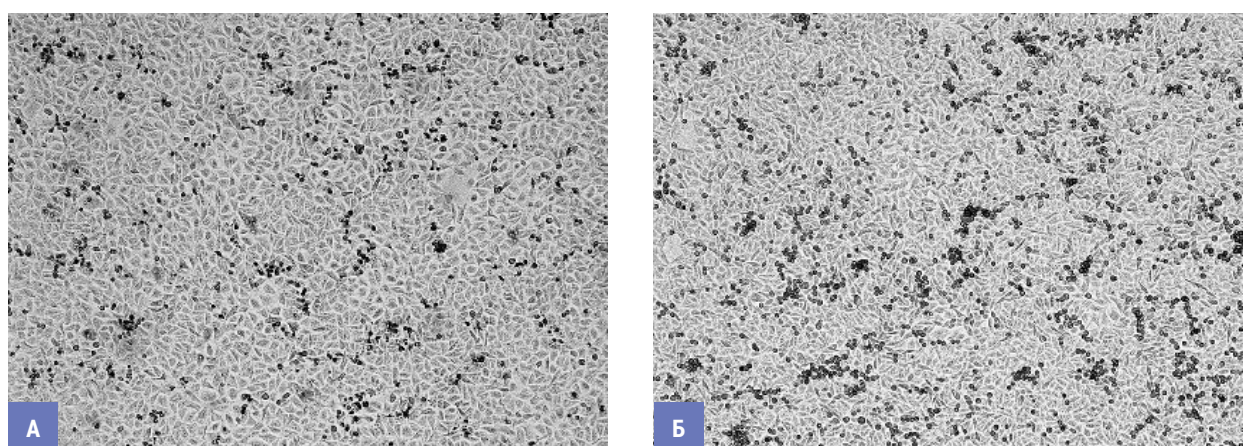


Рис. 5. Клетки HeLa после инкубации с терпеноидом 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde. А – контроль; Б – опыт

($p < 0,05$), он также увеличил уровень экспрессии *CASP8* в 10,48 раз ($p < 0,05$). При использовании 2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one в концентрации 4 мкг/мл экспозиция 72 ч. экспрессия локуса *CASP3* относительно контроля увеличилась в 3,95 раза ($p < 0,05$), а *CASP8* в 3,38 раза ($p < 0,05$). При этом показатели уровня копийности (CNV) локусов *CASP8*, *CASP9*, *CASP3* не претерпевали серьезных изменений (рис. 9).

В то же время оценка изменения уровней копийности (CNV) и экспрессии (EXP) на локусы *TP53* и *MDM2* показала следующие результаты. Соединение 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde при экспозиции 72 часа и концентрации 4 мкг/мл увеличило уровень копийности *TP53* в 1,05 раза ($p < 0,05$), а *MDM2* снизило в 0,26 раза ($p < 0,05$) относительно контроля. Разница между ними составила 4 раза. Кроме того,

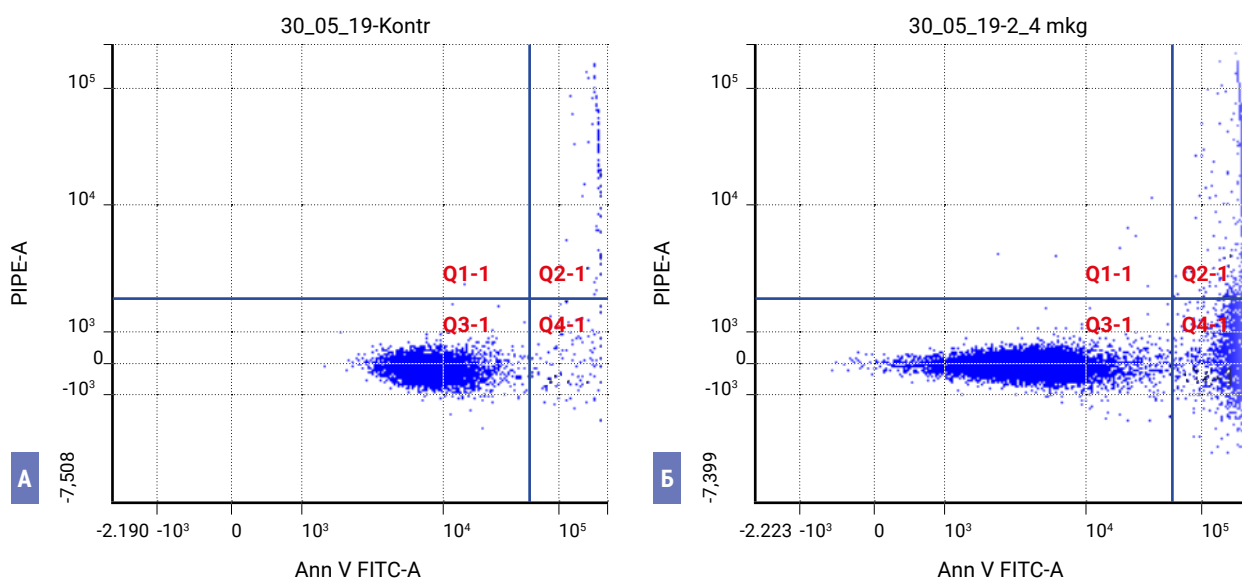


Рис. 6. Воздействие (2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one) на некроз/апоптоз клеточной линии HeLa: А – контроль; Б – опыт, (Q3-1 – живые клетки, Q4-1 – ранний апоптоз, Q2-1 – поздний апоптоз/некроз, Q1-1 – мертвые клетки)

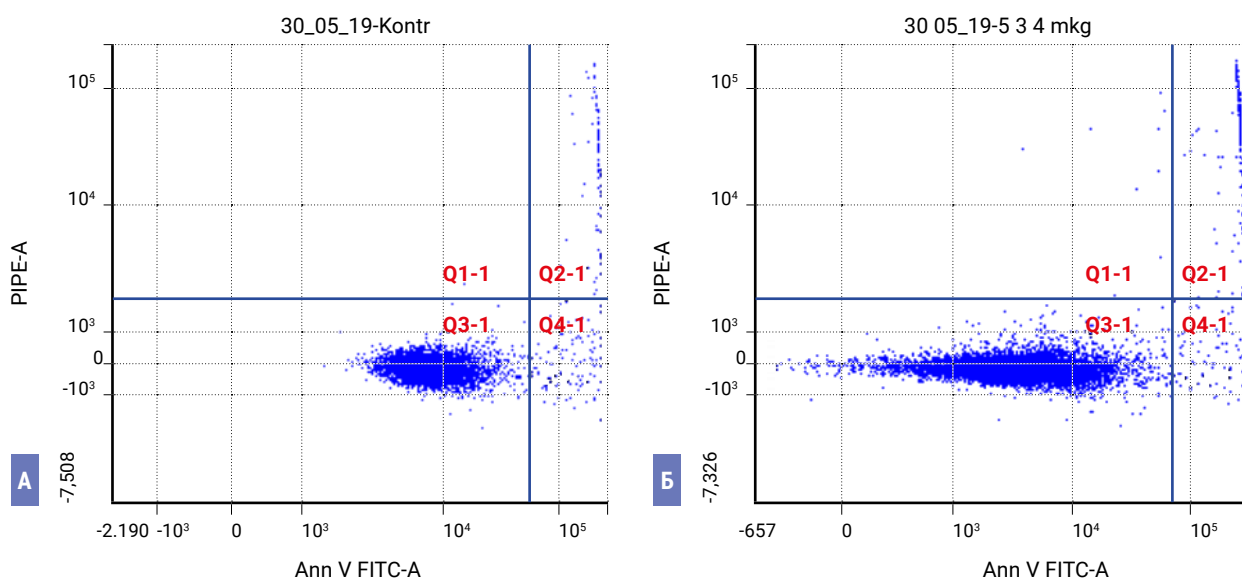


Рис. 7. Воздействие 5-(hydroxymethyl)furan-2-carbaldehyde на некроз/апоптоз клеточной линии HeLa: А – контроль; Б – опыт, (Q3-1 – живые клетки, Q4-1 – ранний апоптоз, Q2-1 – поздний апоптоз/некроз, Q1-1 – мертвые клетки)

2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one при экспозиции 72 ч. и концентрации 4 мкг/мл увеличил уровень экспрессии *TP53* в 1,46 раза ($p < 0,05$), *MDM2* при этом снизился в 0,88 раза ($p < 0,05$). Разница составила 1,66 раза (рис. 10).

При оценке изменения уровня копийности и экспрессии локусов *BAX* и *BCL2* были получены следующие данные. Терпеноид 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde увеличивал уровень копийности локуса *BAX* в 0,9 раз относительно контроля ($p < 0,05$), уровень *BCL2* снижался в 0,13 раз ($p < 0,05$). Разница между ними составила 6,92 раза. Также при воздействии этого же соединения увеличивался уровень экспрессии *BAX* в 1,73 раза ($p < 0,05$), а *BCL2* снижался в 1,19 раза ($p < 0,05$). Разница между ними составила 1,45 раза в пользу увеличения *BAX* (рис. 11).

Примененные в нашем исследовании производные фурана и азулена метаболиты *P. hybridus* (L.)

следующим образом изменили уровень копийности и экспрессии локусов *CDKN1B*, *CDK1*, *CCND1*, *CCND3* и *RB1*. Так 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde при экспозиции 72 часа и концентрации 4 мкг/мл увеличил экспрессию *CCND3* относительно контроля в 20,66 раза ($p < 0,05$), экспрессия *RB1* увеличилась в 7,35 раза ($p < 0,05$). В свою очередь 5-(hydroxymethyl)furan-2-carbaldehyde с экспозицией 72 ч. и концентрацией 4 мкг/мл также увеличил уровень экспрессии *CCND3* в 5,23 раза ($p < 0,05$). В то же время 2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one при аналогичных концентрации и экспозиции увеличил уровень копийности *CCND3* в 3,48 раза ($p < 0,05$), а уровень экспрессии увеличился в 2,42 раза относительно контроля ($p < 0,05$). При этом 2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one в точке 4 мкг/мл с экспозицией 72 ч. увеличил уровень экспрессии локуса *RB1* относительно контроля в 4,51 раза ($p < 0,05$) (рис. 12).

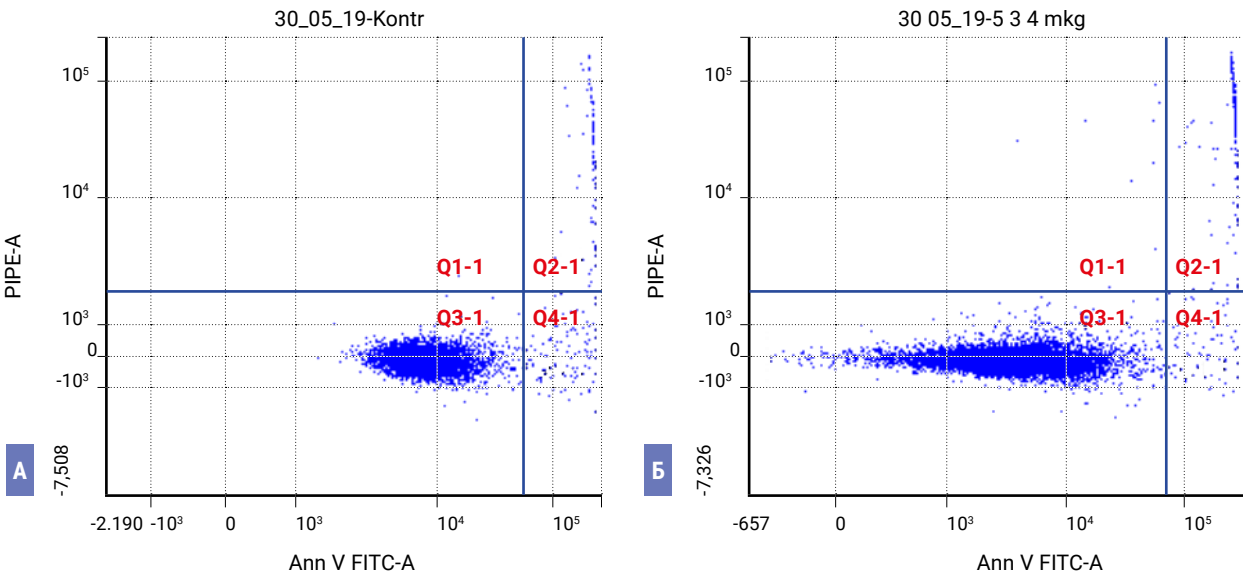


Рис. 8. Воздействие 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde на некроз/апоптоз клеточной линии HeLa: А – контроль; Б – опыт, (Q3-1 – живые клетки, Q4-1 – ранний апоптоз, Q2-1 – поздний апоптоз/некроз, Q1-1 – мертвые клетки)

Таблица 2. Количество клеток линии HeLa в состоянии апоптоза после воздействия выделенными вторичными метаболитами (экспозиция 72 часа)					
Соединение	Концентрация, мкг/мл	Живые клетки Q3-1	Ранний апоптоз Q4-1	Поздний апоптоз / некроз Q2-1	Мертвые клетки Q1-1
Контроль		87,0 %	7,2 %	5,8 %	0 %
№ 2	4	78,3 %	13,3 %	8,3 %	0 %
№ 3	4	91,1 %	2,5 %	6,3 %	0 %
№ 5.3	4	94,2 %	2,6 %	3,2 %	0 %

ОБСУЖДЕНИЕ

С начала 2000-х годов во всем мире публикуется множество работ по поиску новых соединений природного происхождения, в том числе растительного, обладающих цитостатическим либо цитотоксическим действием на опухолевые клетки различных нозологий [12]. В нашей работе

мы провели не только модельный эксперимент по оценке уровня цитотоксического эффекта полученных нами вторичных метаболитов *P. hybridus* (L.), но и применили метод цифровой капельной ПЦР для регистрации молекулярно-генетических изменений локусов, отвечающих за супрессию опухолевого роста и апоптоз в опухолевых клетках линии HeLa.

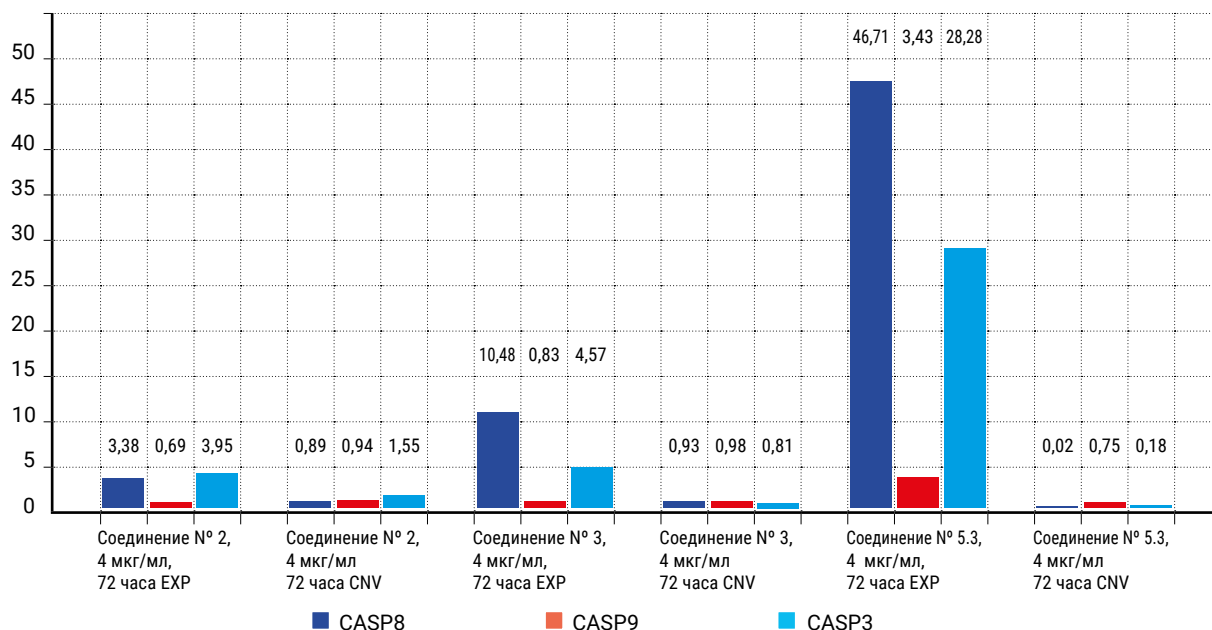


Рис. 9. Изменения уровня копийности и экспрессии локусов *CASP8*, *CASP9*, *CASP3* при действии 2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one (№ 2), 5-(hydroxymethyl)furan-2-carbaldehyde (№ 3) и 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde (№ 5.3)

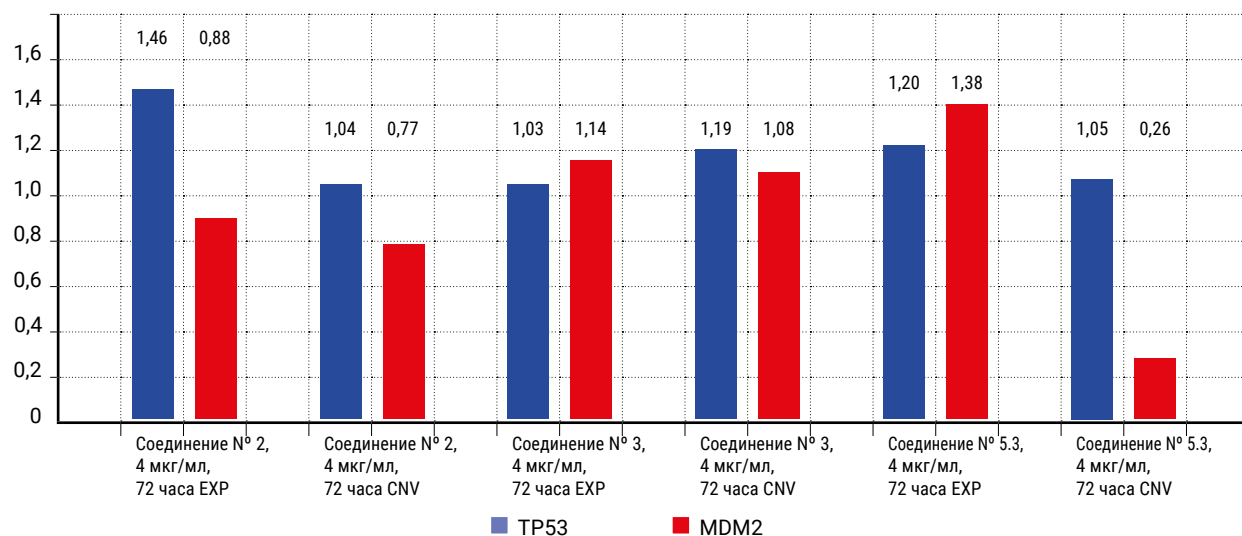


Рис. 10. Изменения уровня копийности и экспрессии локусов *TP53*, *MDM2* при действии 2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one (№ 2), 5-(hydroxymethyl)furan-2-carbaldehyde (№ 3) и 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde (№ 5.3)

Полученные в ходе нашего исследования данные показывают разнонаправленные результаты. Наиболее выраженное изменение уровня экспрессии локусов *CASP8* и *CASP3* было выявлено при воздействии 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde. Цитозольные каспазы – это цистеин-аспарагиновые протеазы, представляющие собой

основное семейство белков, участвующих в передаче сигналов гибели клеток. Каспазы разделяются на три группы: инициаторные, воспалительные и эффекторные. Они принимают непосредственное участие в запуске апоптоза. Как известно белок *CASP8*, являющийся инициаторным, связан с фактором некроза опухоли (TNF), находящимся на поверх-

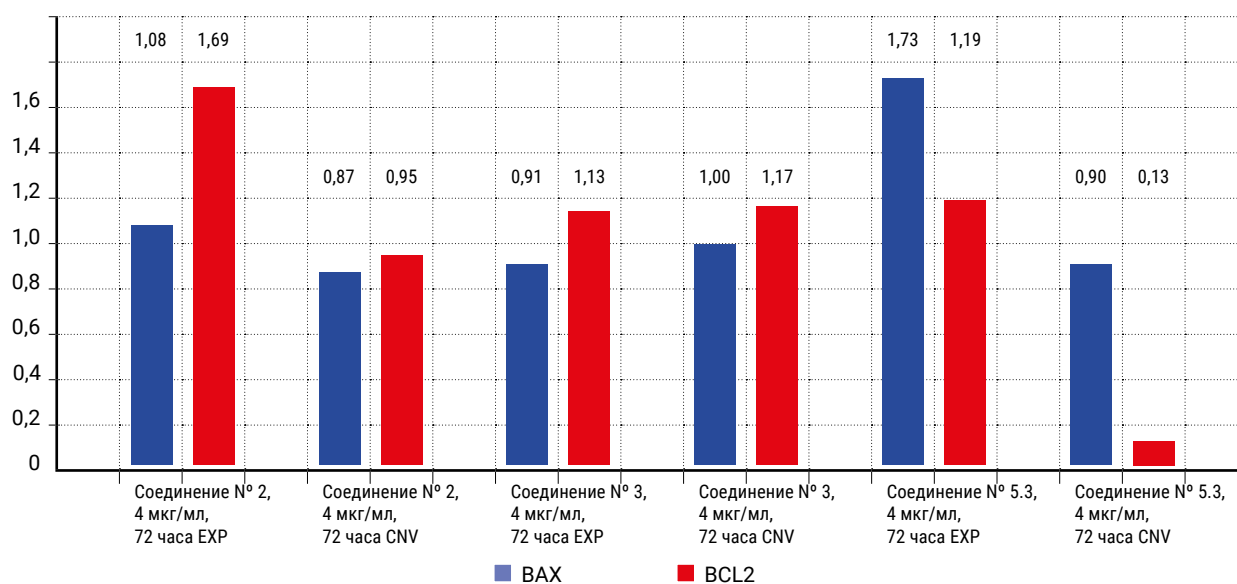


Рис. 11. Изменения уровня копийности и экспрессии локусов *BAX*, *BCL2* при воздействии 2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one (№ 2), 5-(hydroxymethyl)furan-2-carbaldehyde (№ 3) и 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde (№ 5.3)

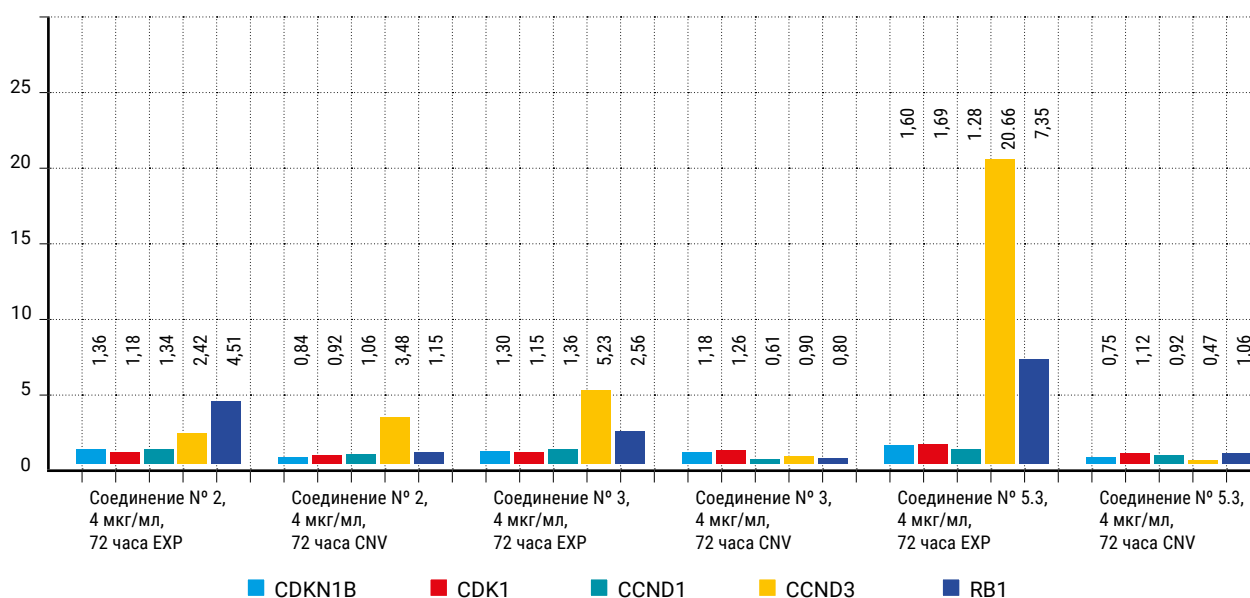


Рис. 12. Изменения уровня копийности и экспрессии локусов *CDKN1B*, *CDK1*, *CCND1*, *CCND3*, *RB1* при воздействии 2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one (№ 2), 5-(hydroxymethyl)furan-2-carbaldehyde (№ 3) и 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde (№ 5.3)

ности клетки, а также FAS лигандом (FasL), и индуцирующим апоптоз (CD95). Активация белка CASP8 через внешний путь апоптоза запускает BID-опосредованную активацию белков BAX и BAK на внешней мембране митохондрий, что приводит к высвобождению цитохрома C и последующей активацией CASP9, который, в свою очередь, активирует CASP3 и CASP7, тем самым выполняя процесс апоптоза по митохондриальному пути [13]. Следует обратить внимание, что при воздействии 5-(hydroxymethyl) furan-2-carbaldehyde наблюдалось изменение уровня экспрессии CASP8 и CASP3 схожего профиля.

В то же время 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde увеличил уровень экспрессии TP53 и в значительной степени снизил экспрессию MDM2, что может говорить о специфической таргетированности действия данного соединения. Следует учитывать, что TP53 обладает опухолесупрессивной активностью, что в значительной степени объясняет его способность индуцировать гибель клеток, включая апоптоз, посредством транскрипционно-зависимых и независимых от транскрипции механизмов [14]. К тому же, ядерный белок p53 транскрипционно активирует экспрессию множества проапоптотических генов семейства BCL-2, таких как NOXA, PUMA, BID, BAD, BIK, BAX и т.д., тогда как он инактивирует экспрессию антиапоптотических BCL-2, BCL-XL и MCL1, приводящих к митохондриальному апоптозу [15]. Связь между изменением уровня экспрессии локусов TP53 и BAX также нашла свое отражение в полученных результатах. Как и в случае со связкой локусов TP53/MDM2, воздействие терпеноида 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde повлияло на уровень экспрессии локусов BAX/BCL2.

Также следует отметить изменения показателей уровня экспрессии локусов CCND3 и RB1 под воздействием 2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one. Это соединение единственное из использованных в нашем исследовании приводило к снижению уровня экспрессии локуса CCND3 относительно RB1 (уровень экспрессии RB1 почти в 2 раза превышал уровень экспрессии CCND3). Как известно, циклины d-типа (d1, d2 и d3) являются регуляторами клеточ-

ного цикла, которые активируют циклинзависимые киназы cdk4 и cdk6, часто сверхэкспрессирующиеся при злокачественных новообразованиях. Продукт гена CCND3 взаимодействует с белком-супрессором опухолей Rb и участвует в его фосфорилировании. Активность CDK4, связанная с этим CCND3, который необходим для перехода клеточного цикла в фазу G2. Ингибирование CCND3 и циклин-d-cdk4/6 киназы в опухолевых клетках с высоким содержанием белка ретинобластомы RB1 вызывает остановку клеточного цикла. Однако снижение только уровня RB1 в опухолевых клетках не приводит к остановке пролиферации [16]. Данные по изменению экспрессии CCND3 и RB1 согласуются с данными объективного контроля по фотографиям, полученным с помощью инвертированного микроскопа и данными проточной цитофлуориметрии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволило установить разнонаправленное влияние вторичных метаболитов *P. hybridus* (L.) на показатели гибели и апоптоза клеток линии HeLa. Данные, полученные методом цифровой капельной ПЦР, позволили выявить максимальное усиление экспрессии генов, ответственных за регуляцию апоптоза (CASP3, CASP8, TP53, BAX) под действием 2,2,8-trimethyldecahydroazulene-5,6-dicarbaldehyde, а также изменение экспрессии генов CCND3 и RB1 под воздействием 2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one. При этом по данным цитометрии и проточной цитофлуориметрии более выраженный проапоптотический (цитотоксический) эффект выявлен именно у 2,4-dihydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one. Необходимо отметить, что в нашей работе наиболее активно на исследуемые вещества реагировал показатель экспрессии, который в ряде случаев диссонировал как с копийностью генов, так и уровнем смертности и апоптоза опухолевых клеток. Возможно химические модификации использованных нами соединений окажут более выраженный эффект как на молекулярно-генетическом уровне, так и клеточном.

Список источников

1. Hegde YM, Theivendren P, Srinivas G, Palanivel M, Shanmugam N, Kunjiappan S, et al. A Recent Advancement in Nanotechnology Approaches for the Treatment of Cervical Cancer. *Anticancer Agents Med Chem.* 2023;23(1):37–59. <https://doi.org/10.2174/1871520622666220513160706>

2. Кутилин Д. С., Могушкова Х. А. Влияние противоопухолевых антибиотиков антрациклинового ряда на транскрипционную активность раково-тестикулярных антигенов в модельном эксперименте на клеточной линии HeLa. Медицинская иммунология. 2019;21(3):539–546. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2019-3-539-546>, EDN: SIWZEN
3. Cox E. Performing HeLa: theatrical bodies and living remains. *Med Humanit.* 2023 Sep;49(3):447–456. <https://doi.org/10.1136/medhum-2022-012524>
4. Li Y, Kong D, Fu Y, Sussman MR, Wu H. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiol Biochem.* 2020 Mar;148:80–89. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.006>
5. Fakhri S, Moradi SZ, Farzaei MH, Bishayee A. Modulation of dysregulated cancer metabolism by plant secondary metabolites: A mechanistic review. *Semin Cancer Biol.* 2022 May;80:276–305. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2020.02.007>
6. Zagorskina NV, Nazarenko LV. Secondary Plant Metabolites: Distribution, History of Study, Practical Application Bulletin of the Moscow City Pedagogical University. Series "Pedagogy and Psychology". 2019;(2(34)):8–19. <https://doi.org/10.25688/2076-9091.2019.34.2.1>
7. Mohiuddin AK. Chemistry of Secondary Metabolites. *Annals of Clinical Toxicology.* 2019 Jan 29;2. <https://doi.org/10.25107/2641-905X-v2-id1014>
8. Apostolova S, Oreshkova T, Uzunova V, Georgieva I, Maslenkova L, Tzoneva R. A Standardized Extract of *Petasites hybridus* L., Containing the Active Ingredients Petasins, Acts as a Pro-Oxidant and Triggers Apoptosis through Elevating of NF-κB in a Highly Invasive Human Breast Cancer Cell Line. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2023 Jun 12;28(6):111. <https://doi.org/10.31083/j.fbl2806111>
9. Matsumoto T, Imahori D, Saito Y, Zhang W, Ohta T, Yoshida T, et al. Cytotoxic activities of sesquiterpenoids from the aerial parts of *Petasites japonicus* against cancer stem cells. *J Nat Med.* 2020 Sep;74(4):689–701. <https://doi.org/10.1007/s11418-020-01420-x>
10. Кутилин Д. С., Кечерюкова М. М. От биоинформационного скрининга генетических маркёров к малоинвазивной диагностике метастазов в лимфатических узлах у пациенток с раком шейки матки. *Казанский медицинский журнал.* 2022;103(5):725–736. <https://doi.org/10.17816/KMJ2022-725>, EDN: OTTJXB
11. Тимофеева С. В., Филиппова С. Ю., Ситковская А. О., Гненная Н. В., Межевова И. В., Шамова Т. В. и др. Биоресурсная коллекция клеточных линий и первичных опухолей ФГБУ НМИЦ онкологии Минздрава России. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2022;21(11):44–50. <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2022-3397>, EDN: MWVYOR
12. Bouabdallah S, Al-Maktoum A, Amin A. Steroidal Saponins: Naturally Occurring Compounds as Inhibitors of the Hallmarks of Cancer. *Cancers (Basel).* 2023 Jul 31;15(15):3900. <https://doi.org/10.3390/cancers15153900>
13. Pang J, Vince JE. The role of caspase-8 in inflammatory signalling and pyroptotic cell death. *Semin Immunol.* 2023 Nov;70:101832. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2023.101832>
14. Voskarides K, Giannopoulou N. The Role of TP53 in Adaptation and Evolution. *Cells.* 2023 Feb 3;12(3):512. <https://doi.org/10.3390/cells12030512>
15. Hao Q, Chen J, Lu H, Zhou X. The ARTS of p53-dependent mitochondrial apoptosis. *J Mol Cell Biol.* 2023 Mar 29;14(10):mjac074. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjac074>
16. Wang H, Nicolay BN, Chick JM, Gao X, Geng Y, Ren H, et al. The metabolic function of cyclin D3-CDK6 kinase in cancer cell survival. *Nature.* 2017 Jun 15;546(7658):426–430. <https://doi.org/10.1038/nature22797>

Информация об авторах:

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

Енин Ярослав Сергеевич ✉ – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4572-1579>, SPIN: 7683-2286, AuthorID: 840050, Scopus Author ID: 57196464479

Буров Олег Николаевич – к.х.н., доцент кафедры природных и высокомолекулярных соединений химического факультета, ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет», г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7704-033X>, SPIN: 5269-7656, AuthorID: 642948, ResearcherID: A-8428-2014, Scopus Author ID: 23033004000

Бондаренко Елена Сергеевна – младший 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/0000-0002-8522-1026>, SPIN: 3117-4040, AuthorID: 865798, Scopus Author ID: 57200132337

Сагакянц Александр Борисович – к.б.н., 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

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

Дзигунова Юлия Викторовна – старший преподаватель кафедры ботаники академии биологии и биотехнологии им. Д. И. Ивановского, ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет», г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
SPIN: 2204-2967, AuthorID: 1062681

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

Пржедецкий Юрий Валентинович – д.м.н., профессор, заведующий отделением 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/0000-0003-3976-0210>, SPIN: 3888-6265, ResearcherID: ATT-7598-2020, Scopus Author ID: 57188731912

Вклад авторов:

Златник Е. Ю. – редактирование рукописи;
Енин Я. С. – концепция и дизайн исследования, проведение эксперимента, написание рукописи;
Буров О. Н. – выделение и верификация соединений из растительного материала;
Бондаренко Е. С. – проведение цитофлуориметрического анализа;
Сагакянц А. Б. – анализ результатов цитофлуориметрии;
Кутилин Д. С. – редактирование рукописи;
Дзигунова Ю. В. – сбор и определение растительного материала;
Новикова И. А. – оформление библиографии, редактирование рукописи;
Пржедецкий Ю. В. – статистическая обработка данных.

Изменения концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК и ДНК дикого типа гена *H3F3A* (K27M) в крови и люмбальном ликворе у детей с диффузными срединными глиомами на фоне курса лучевой терапии

О. С. Регентова¹✉, В. К. Боженко¹, Е. А. Кудинова¹, Т. М. Кулинич¹, Е. Л. Джикия¹,
В. В. Каминский¹, Ф. Ф. Антоненко¹, Р. А. Пархоменко^{1,2}, Н. И. Зелинская¹, Н. Сидибее¹,
П. В. Полушкин¹, А. И. Шевцов¹, М. А. Ближниченко¹, В. А. Солодкий¹

¹ ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация

² ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Российская Федерация

✉ olgagraudensh@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучить выявляемость свободно циркулирующей ДНК гена *H3F3A* (K27M) в плазме крови и люмбальном ликворе у детей с диффузными срединными глиомами (ДСГ) на фоне курса лучевой терапии (ЛТ).

Материалы и методы. Молекулярно-генетические исследования проводились методом цифровой полимеразной цепной реакции (ПЦР). Проанализировано 96 образцов люмбального ликвора и 288 образцов плазмы периферической крови 96 пациентов детского возраста. В исследуемом материале определялась концентрация циркулирующей опухолевой (цоДНК) мутантной ДНК и ДНК дикого типа гена *H3F3A* (K27M) на фоне проводимого курса ЛТ. Забор люмбального ликвора проводился однократно в начале ЛТ, забор крови – трижды: 1-я проба – до начала ЛТ, 2-я проба – на фоне суммарной очаговой дозы (СОД) 10–15 Грей (Гр), и 3-я – после завершения курса ЛТ. Пациенты, которые получили лучевую или химиолучевую терапию, были разделены на следующие группы: 1-я группа включала в себя пациентов со стабилизацией роста опухоли головного мозга в сроки раннего магнитно-резонансного (МР) контроля, 2-я группа – пациентов с прогрессированием заболевания.

Результаты. При стабилизации заболевания после проведенного курса ЛТ на фоне лечения уровень концентрации как мутантного варианта цоДНК, так и цоДНК дикого типа достоверно снижался в анализе крови при третьем заборе. Отсутствие изменений или увеличение уровня концентрации мутантной цоДНК и цоДНК дикого типа гена *H3F3A* (K27M) к концу курса ЛТ было характерно для пациентов продолженным ростом опухоли с прогрессированием заболевания в виде появления метастатических очагов в центральной нервной системе. При этом концентрация ДНК дикого типа гена *H3F3A* (K27M) в группе пациентов с прогрессированием была более высокой как в люмбальном ликворе, так в анализе крови при первом заборе.

Заключение. Определение концентрации и динамики циркулирующей опухолевой ДНК мутантного и дикого типа гена *H3F3A* (K27M) в плазме крови и люмбальном ликворе у детей с диффузными срединными глиомами головного мозга в процессе ЛТ является перспективным с точки зрения прогноза эффективности проводимой терапии.

Ключевые слова: глиома, диффузные срединная глиома, цифровая капельная ПЦР, ген *H3F3A*, мутация K27M, циркулирующая опухолевая ДНК (цоДНК)

Для цитирования: Регентова О. С., Боженко В. К., Кудинова Е. А., Кулинич Т. М., Джикия Е. Л., Каминский В. В., Антоненко Ф. Ф., Пархоменко Р. А., Зелинская Н. И., Сидибее Н., Полушкин А. И., Ближниченко М. А., Солодкий В. А. Изменения концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК и ДНК дикого типа гена *H3F3A* (K27M) в крови и люмбальном ликворе у детей с диффузными срединными глиомами на фоне курса лучевой терапии. Южно-Российский онкологический журнал. 2024; 5(3): 64-75. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-3-6>, <https://elibrary.ru/mzrjgd>

Для корреспонденции: Регентова Ольга Сергеевна – к.м.н., заведующий отделением лучевой терапии детей с койками онкологии, ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
Адрес: 117997, Российская Федерация, г. Москва, ул. Профсоюзная, д. 86
E-mail: olgagraudensh@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0219-7260>
SPIN: 9657-0598, AuthorID: 1011228

Соблюдение этических стандартов: в работе соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ред. 2013). Исследование обсуждено и одобрено на заседании Ученого совета ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (научный протокол № 3/2022 от 12.12.2022 г., протокол № 7). Информированное согласие получено от всех участников исследования

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось

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

Статья поступила в редакцию 22.07.2024; одобрена после рецензирования 19.08.2024; принята к публикации 25.08.2024

© Регентова О. С., Боженко В. К., Кудинова Е. А., Кулинич Т. М., Джикия Е. Л., Каминский В. В., Антоненко Ф. Ф., Пархоменко Р. А., Зелинская Н. И., Сидибее Н., Полушкин А. И., Ближниченко М. А., Солодкий В. А., 2024

Changes in the concentration of freely circulating mutant DNA and wild-type DNA of the *H3F3A* (K27M) gene in the blood and cerebrospinal fluid of children with diffuse midline gliomas during a course of radiation therapy

O. S. Regentova¹✉, V. K. Bozhenko¹, E. A. Kudinova¹, T. M. Kulinich¹, E. L. Dzhikiya¹, V. V. Kaminskiy¹, F. F. Antonenko¹, R. A. Parkhomenko^{1,2}, N. I. Zelinskaya¹, N. Sidibe¹, P. V. Polushkin¹, A. I. Shevtsov¹, M. A. Bliznichenko¹, V. A. Solodkiy¹

¹ Russian Scientific Center of Roentgenoradiology, Moscow, Russian Federation

² RUDN University, Moscow, Russian Federation

✉ olgagraudensh@mail.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. To study the possibility of detecting freely circulating DNA of the *H3F3A* (K27M) gene in blood plasma and cerebrospinal fluid in the lumbar spine in children with diffuse midline gliomas (DMG) during a course of radiation therapy (RT).

Materials and methods. Molecular genetic studies were carried out by digital PCR. 96 samples of lumbar cerebrospinal fluid and 288 samples of peripheral blood plasma from 96 pediatric patients were analyzed. The concentration of circulating tumor (ctDNA) mutant DNA and wild-type DNA of the *H3F3A* (K27M) gene was determined in the studied material against the background of a course of RT. Lumbar cerebrospinal fluid sampling was performed once at the beginning of therapy, blood sampling was performed three times: The 1st test before the start of RT, the 2nd against the background of a total dose 10–15 Gy, and the 3rd after the completion of the RT course. Patients are divided into the following groups: patients with stabilization of brain tumor growth during early magnetic resonance (MR) control 3 months after completion of the course of RT; patients with disease progression during the same follow-up period who underwent radiation or chemoradiotherapy.

Results. When the disease stabilized after a RT course during treatment, the concentration level of both the mutant variant of ctDNA and wild-type ctDNA significantly decreased in the third blood fraction. The absence of changes or an increase in the concentration of mutant ctDNA and wild-type ctDNA of the *H3F3A* (K27M) gene by the end of the course of radiation therapy was typical for patients with disease progression in the form of the appearance of metastatic foci in the central nervous system or continued tumor growth. At the same time, the concentration of wild-type DNA of the *H3F3A* (K27M) gene in the group of patients with progression was higher both in the lumbar cerebrospinal fluid and in the first fraction of blood plasma.

Conclusion. Determination of the concentration and dynamics of circulating tumor DNA of the mutant and wild type of the *H3F3A* (K27M) gene in blood plasma and lumbar cerebrospinal fluid in children with diffuse median gliomas of the brain during radiation therapy is promising from the point of view of predicting the effectiveness of therapy.

Keywords: glioma, diffuse median glioma, digital drip PCR, *H3F3A*, K27M, circulating tumor DNA (ctDNA)

For citation: Regentova O. S., Bozhenko V. K., Kudinova E. A., Kulinich T. M., Dzhikiya E. L., Kaminskiy V. V., Antonenko F. F., Parkhomenko R. A., Zelinskaya N. I., Sidibe N., Polushkin P. V., Shevtsov A. I., Bliznichenko M. A., Solodkiy V. A. Changes in the concentration of freely circulating mutant DNA and wild-type DNA of the *H3F3A* (K27M) gene in the blood and cerebrospinal fluid of children with diffuse midline gliomas during a course of radiation therapy. South Russian Journal of Cancer. 2024; 5(3):64-75. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-3-6>, <https://elibrary.ru/mzrjgd>

For correspondence: Olga S. Regentova – Cand. Sci. (Med.), MD, head of pediatric radiation oncology department with beds for oncology patients, Russian Scientific Center of Roentgen Radiology, Moscow, Russian Federation
Address: 86 Profsoyuznaya Street, Moscow 117997, Russian Federation
E-mail: olgagraudensh@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0219-7260>
SPIN: 9657-0598, AuthorID:1011228

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 discussed and approved at a meeting by the Scientific Council of the Russian Scientific Center of Roentgenoradiology (Scientific Protocol No. 3/2022, 12/12/2022, Protocol No. 7). Informed consent was received from all the participants of the study

Funding: this work was not funded

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

The article was submitted 22.07.2024; approved after reviewing 19.08.2024; accepted for publication 25.08.2024

ВВЕДЕНИЕ

За последние 10 лет произошел фундаментальный сдвиг парадигмы в области диагностики диффузных срединных глиом (ДСГ), где среди наиболее значимых открытий – мутация K27M в генах *H3F3A* или *HIST1H3B*, которые кодируют варианты гистона H3, H3.3 и H3.1. Мутация H3K27M дает фору к глиоматогенезу за счет стойкой клоногенности и aberrантной дифференцировки и определяет связанные с этим изменения в метилировании гистонов и ДНК [1]. Сохранение пролиферативных клоногенных состояний увеличивает вероятность приобретения дополнительных мутаций в зарождающихся неоморфных клетках. Кроме того, aberrантная дифференцировка может изменить организацию тканей и создать микроокружение, способствующее развитию опухолей. Оба фактора являются потенциальными последствиями мутации H3K27M и могут способствовать возникновению ДСГ [1]. На сегодняшний день выявление мутации K27M в гене *H3F3A* рекомендуется в ряде зарубежных стран для оценки прогноза течения заболевания и выбора тактики лечения [2–4]. Выявление мутации при ДСГ сопряжено с крайне агрессивным клиническим течением и неблагоприятным прогнозом [5–8] независимо от данных гистологического исследования, поэтому при обнаружении мутации K27M в гене *H3F3A* опухоль относят к 4-й степени злокачественности [4, 6, 7].

При сравнении пациентов взрослого и детского возраста с опухолями центральной нервной системы (ЦНС) было выявлено, что у взрослых мутация K27M с наибольшей частотой встречается в глиомах высокой степени злокачественности (ГВСЗ) таламуса и спинного мозга, а у детей – при диффузных срединных глиомах головного мозга, при этом частота мутации K27M в гене *H3F3A* может достигать 94 % [6, 9, 10]. Важным отличием является то, что у детей, страдающих ДСГ, наличие мутации K27M – крайне неблагоприятный прогностический фактор, а для супратенториальных глиом у взрослых данное изменение гена не является клинически значимым. Достоверных отличий в выживаемости и клиническом течении заболевания для взрослых пациентов с мутацией K27M и без не выявлено, H3K27M может присутствовать как в гистологически верифицированных ГВСЗ, так и в глиомах низкой степени злокачественности (ГНСЗ) [9].

У детей с ГВСЗ с мутацией K27M обладают более агрессивным клиническим течением в сравнении с ГВСЗ другой генетической природы, в связи с чем выявление мутантных форм имеет прогностическую ценность, и большинство исследований сосредоточены именно на изучении мутантной ДНК гена *H3F3A* при ДСГ, в особенности среди детей [2]. При этом практически отсутствует информация о прогностической роли определения изменения концентрации ДНК дикого типа в процессе лечения и соотношении концентраций мутантной ДНК и дикого типа гена *H3F3A* [11] среди опухолей срединных структур, хотя для опухолей других локализаций возрастание концентрации ДНК дикого типа является плохим прогностическим фактором [12, 13].

При ДСГ вследствие особенностей анатомического расположения опухолей затруднено получение гистологического материала с помощью хирургического вмешательства. К сожалению, использование прицельной стереотаксической биопсии не всегда позволяет получить адекватное количество и качество материала для гистологического и молекулярного исследования [14, 15]. При биопсии диффузной опухоли проводится забор ткани из нескольких точек, что не всегда позволяет выявить внутриопухолевую гетерогенность для точного диагноза [16]. Использование метода жидкостной биопсии, нацеленное на выявление биологических маркеров по анализу циркулирующих опухолевых ДНК (цоДНК) в образцах плазмы крови и люмбального ликвора, позволяет определить молекулярный профиль опухоли без использования травмирующих инвазивных методик. Современные подходы к мониторингу течения болезни, соответствующие мировым стандартам, включают в себя рентгенографическую визуализацию – магнитно-резонансную томографию (МРТ) для определения ответа опухоли на лечение. Стоит отметить, что проведение МРТ-исследования является дорогостоящей процедурой, и зачастую, в случае исследования пациентов детского возраста, требует применения анестезиологического пособия, что труднодоступно в регионах. В случае ДСГ H3K27M диффузный рост опухоли и вызванный радиацией отек усложняют интерпретацию изображений при динамическом наблюдении. Исследования показали, что уровни биомаркеров опухоли в биологических средах, например, крови или спинномозговой жидкости, коррелируют с течением заболевания. Таким образом, последовательная количественная оценка этих биомаркеров может помочь заранее выявить

прогрессирование заболевания. Диагностический потенциал использования жидкостной биопсии при ДСГ у детей не раскрыт до конца, хотя исследования в этом направлении активно ведутся [7, 17]. Кроме того, применение жидкостной биопсии в детской нейроонкологии отстает от аналогичных методов у взрослых, тем не менее, эти исследования показывают, что технология обладает значительным потенциалом [7, 17–19].

Наиболее доступным материалом для метода жидкостной биопсии является плазма крови, и для многих солидных новообразований определение цоДНК в плазме является важным диагностическим методом [6, 7]. Однако при ДСГ гемато-энцефалический барьер (ГЭБ) значительно ограничивает поступление цоДНК в кровь [20], поэтому альтернативным источником цоДНК является люмбальный ликвор [7, 21]. При опухолях ЦНС у детей молекулярное исследование люмбального ликвора также может быть значимой альтернативой морфологической верификации при высоких рисках или невозможности получения биопсийного материала [19].

На сегодняшний день наиболее чувствительным методом оценки цоДНК, позволяющим получить адекватные результаты при малом количестве материала, является метод цифровой капельной полимеразной цепной реакции (ПЦР) [7]. За последние годы количество исследований, проводимых этим методом, многократно возросло, в том числе при опухолях ЦНС [7, 11].

Комплексный подход в исследованиях методом жидкостной биопсии, особенно при ДСГ, должен включать в себя сочетание выбора материала исследования и методов молекулярного анализа [6, 7]. В последние годы золотым стандартом стало исследование цоДНК как в плазме, так и в ликворе, что позволяет получить наиболее точные молекулярные данные, необходимые для диагностики и прогноза течения заболевания.

В данной работе мы исследовали цоДНК гена *H3F3A* (K27M) как в плазме крови, так и в люмбальном ликворе у детей с опухолями срединных структур на фоне проведения лучевой терапии (ЛТ). Особое внимание было уделено не только выявляемости мутантной цоДНК, но и соотношению количества мутантной цоДНК к цоДНК дикого типа – вариантная аллельная фракция (ВАФ), изменению ВАФ *H3.3K27M* с течением времени («дельта ВАФ»), а также ее корреляции с различными клиническими параметрами [22]. На наш взгляд,

немаловажным, но малоизученным является исследование пациентов без мутации *H3.3K27M*. На сегодняшний день в доступных литературных источниках мы не нашли сведения об изменении концентрации ДНК дикого типа гена *H3F3A* на фоне ЛТ у детей, что подтверждает актуальность нашей работы и необходимость дальнейшего развития молекулярной диагностики и персонализированной терапии ДСГ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 96 детей с опухолями срединных структур головного мозга, которые проходили курс лучевой или химиолучевой терапии на базе отделения лучевой терапии детей ФГБУ «Российского научного центра рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации в период с 2022 по 2024 гг. Исследуемая когорта состояла из 53 (55 %) мальчиков и 43 (45 %) девочек в возрасте от 18 месяцев до 18 лет, средний возраст на момент постановки диагноза составлял 8 лет. Клинические показатели включали в себя пол, возраст, характер прогрессирования болезни – появление метастатических отсеков в ЦНС или продолженный рост опухоли, но они не имели достоверных отличий в исследуемых группах и связей с концентрациями ДНК в плазме крови и люмбальном ликворе ($p > 0,05$). При проведении инструментального обследования больных по результатам МРТ головного мозга нативно и с контрастным усилением (КУ) до начала терапии было установлено, что у всех пациентов опухоли имели диффузный рост и срединное расположение. Гистологическое исследование опухолей в 18 случаях продемонстрировало, что в основном преобладали ГВСЗ, у 6 из них имела место мутация K27M в гене *H3F3A*. Оценка групп с продолженным ростом и стабилизацией заболевания проводилась на основании данных МРТ головного мозга нативно и с КУ, выполненной в сроки через 3–4 месяца после завершения курса ЛТ.

Схема проведения лучевой терапии

ЛТ проводилась с использованием линейных ускорителей Varian Clinac 2100, True Beam, системы дозиметрических расчетов «Varian Eclipse». В ходе терапии применялся традиционный вариант

фракционирования дозы по 1,8–2 Грея (Гр) с подведением суммарной дозы до 54 Гр. При наличии выраженного перифокального отека и симптомах формирующейся внутричерепной гипертензии, лечение начиналось в режиме мультифракционирования разовыми дозами 1,0–1,1 Гр 2 раза в день с интервалом между фракциями 4–6 часов с постепенным переходом на обычный режим фракционирования по мере стабилизации состояния, но с коррекцией суммарной дозы за период мультифракционирования в сторону ее повышения эквивалентной 54 Гр. У больных с гистологически подтвержденным диагнозом ГВСЗ курс ЛТ проводился с параллельной радиомодификацией темозоломидом, 75 мг/м², ежедневно на фоне всего курса ЛТ.

Получение материала для исследования

В ходе исследования мы получили образцы плазмы периферической крови и люмбального ликвора от 97 пациентов. Образцы люмбального ликвора были взяты однократно на фоне ЛТ. Забор плазмы крови производился на трех этапах: до начала терапии, в процессе ЛТ и после завершения курса ЛТ.

Выделение циркулирующей ДНК из люмбального ликвора

Для выделения цоДНК из люмбального ликвора мы использовали наборы фирмы Sileks, которые основаны на использовании частиц SileksMagNA-Direct

(частицы для избирательного связывания нуклеиновых кислот). Процедуру извлечения проводили согласно протоколу, предоставленному производителем. Забор ликвора и начало процедуры выделения циркулирующей опухолевой ДНК не превышали 30 мин. Люмбальный ликвор центрифугировали при 1500 оборотов в минуту в течение 5 мин., и надосадочную фракцию объемом от 0,7 до 2 мл использовали для выделения цоДНК. В нашей работе из 96 образцов ликвора в 33 была выделена мутантная цоДНК гена *H3F3A*, цоДНК дикого типа гена *H3F3A* была выделена во всех 96 образцах ликвора (рис. 1).

Выделение циркулирующей ДНК из плазмы крови

Подготовка плазмы. Плазма отделялась сразу после получения образца крови. Для выделения циркулирующей ДНК из плазмы крови использовали наборы фирмы Sileks на основе частиц SileksMagNA-Direct. Процедуру выделения проводили по протоколу фирмы производителя. Из полученных 288 образцов плазмы периферической крови, у 29 была выделена мутантная цоДНК гена *H3F3A*, цоДНК дикого типа гена *H3F3A* выделена во всех исследуемых образцах.

Определение мутации K27M в гене *H3F3A* методом цифровой капельной ПЦР (ddPCR)

Применялся высокочувствительный скрининг мутации *H3F3A* (K27M) с использованием техно-

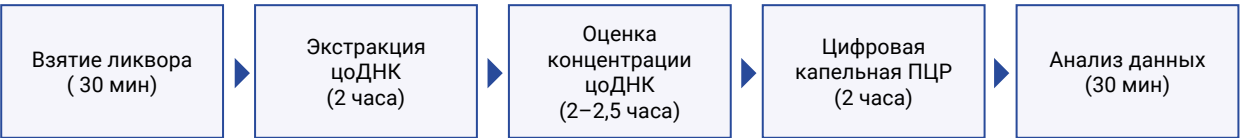


Рис. 1. Выделение циркулирующей опухолевой ДНК методом капельной ПЦР из люмбального ликвора

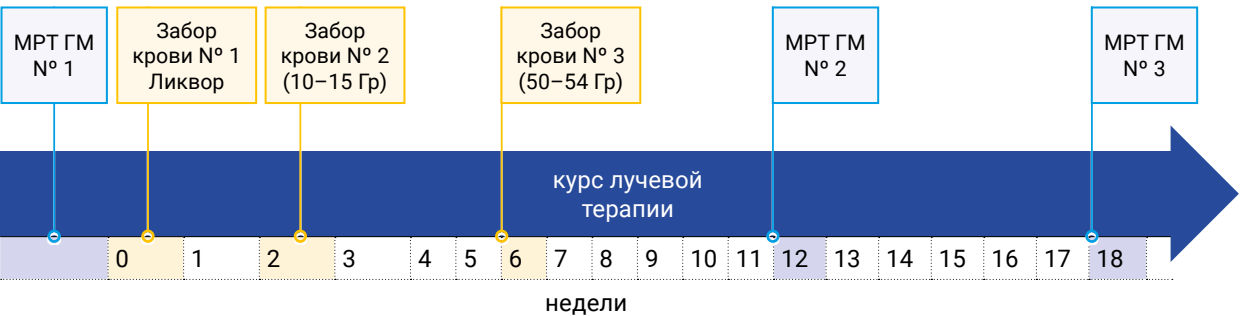


Рис. 2. Дизайн исследования

логии Digital Droplet PCR (ddPCR) с применением набора для скрининга *H3F3A* (K28M) Screening Kit (Bio-Rad, США) и системы QX100 Droplet Digital PCR System (Bio-Rad, США).

Для постановки ddPCR применяли реактивы фирмы «BioRad» согласно протоколу исследования. ДНК-зонды, использовавшиеся для детекции продуктов амплификации исследуемых и нормировочных генов, были помечены FAM и HEX. ПЦР смесь помещали в генератор капель, где из 20 мкл образца, в котором требуется определить количество исследуемой ДНК, создают водно-маслянную эмульсию, в каждой пробирке образуются до 20 000 капель объемом 1 нл. При этом генетический материал распределяется по каплям случайным образом: в них попадают как ДНК-мишени, так и фоновая ДНК. Процесс распределения целевой ДНК по каплям чисто случайный и подчиняется закону распределения малых чисел Пуассона. Перед разделением образца на капли не обязательно разводить его до концентрации, чтобы в каждой капле было либо 0, либо 1 копия ДНК-мишени: при анализе результатов учитываются ситуации, когда в одной капле находится более одной копии мишени. По распределению Пуассона в каплю либо попадает одна матричная цепь, либо не попадает ни одной. Из генератора капель образцы переносили в амплификатор. Амплификацию осуществляли в режиме «реального времени». После амплификации планшет помещали в прибор «BIO-RAD QX 100TM DROPLET READER», где происходило считывание сигнала от флуоресцентных меток. В капле с матрицей амплификация идет во много раз эффективнее, чем при других видах ПЦР, что связано с нахождением всех компонентов смеси для ПЦР в нанобъем. Во время амплификации происходит энзиматическое расщепление TaqMan-зондов, в результате чего многократно увеличивается эффективность флуоресценции капли. Накопленный в ходе амплификации продукт детектируется в каждой капле отдельно, со скоростью 1500 капель/с. По соотношению общего количества микрокапель и количества микрокапель, в которых уровень флуоресценции превышает фоновый, ридер рассчитывает абсолютное количество ДНК в одном микролитре образца. Учет результатов производился в программе «Quanta Self 16».

База клинических случаев формировалась с использованием электронных баз таблиц Microsoft Excel. Статистическая обработка проводилась

с применением программного обеспечения SPSS для Windows, версия 26.0 (SPSS, Чикаго, Иллинойс, США) и Statistica, версия 13.

Проверку нормальности распределения выборки проводили с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Достоверность различий определяли с помощью критерия Манна-Уитни. Для оценки качественных признаков применяли точный односторонний критерий Фишера. Результаты сравнения количественных данных считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Анализ мутаций

В последние годы ученые сосредоточили свое внимание на H3.3K27M-мутантных ДСГ [19], поскольку мутация *H3F3A* (K27M) чаще встречается, чем мутации G34V/R, у детей с высоко злокачественными диффузными глиомами [23–25]. Эта мутация рассматривается как потенциальный диагностический маркер для определения этих опухолей, аналогично использованию мутаций IDH1/2 для диагностики диффузных глиом у взрослых.

Все мутации H3K27M, описанные при ДСГ, в большинстве случаев имеют одинаковые эпигеномные последствия для комплекса PRC2 (PRC2 – Polycomb repressive complex 2 – консервативный белковый комплекс) в целом [26, 27], несмотря на различные функции и геномное распределение множества вариантов. Важно отметить, что именно от типа гистона, где присутствует мутация K27M, в значительной степени зависит продолжительность жизни пациентов. Еще в 2014 г. Wu и соавт. установили, что опухоли с мутацией в гистоне H3.1 лучше поддаются ЛТ, имеют менее агрессивное течение и реже дают метастазы [28]. Поэтому оценка типа мутации гистона может быть использована в качестве прогностического фактора стратификации в будущих проспективных исследованиях [4].

В настоящем исследовании оценивались ВАФ H3.3K27M – соотношение концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК к ДНК дикого типа гена *H3F3A* (K27M) в пробах люмбального ликвора, а также в плазме крови. При этом забор образцов плазмы крови проводился до начала проведения ЛТ (проба 1), в процессе проведения ЛТ (проба 2) и после окончания ЛТ (проба 3) (рис. 2). Всего оценивалось 8 параметров. Тем самым мы определили

концентрацию и оценили динамику изменения, на фоне ЛТ не только мутантной ДНК, но и ДНК дикого типа гена *H3F3A* (K27M). Необходимо понимание молекулярных особенностей развития ДСГ с различных сторон, чтобы стало возможным совершенствование и создание новых терапевтических стратегий.

2. Корреляционный статус гена *H3F3A* (K27M) и клинико-патологическая характеристика

В ранее проведенных исследованиях было показано, что K27M-мутантные ДСГ связаны со значительно более краткосрочной выживаемостью [29]. Более того, в многофакторном анализе, учитывающем также эффект лечения, тип мутации гистона H3 был более точным предиктором продолжительности выживаемости, чем оценка клинико-радиологического риска ДСГ [11, 30].

При анализе полученных нами данных мы установили наличие достоверной корреляционной зависимости между прогрессированием и мутантной цоДНК гена *H3F3A* (K27M), полученной из фракции люмбального ликвора (табл. 1).

В недавнем доклиническом исследовании Grasso и соавт., исследуя эффективность применения препарата панобиностата при ДСГ, установили его эффективность против клеток, содержащих как мутантную ДНК, так и ДНК дикого типа для гена *H3F3A* (K27M) *in vitro*, хотя клетки с мутацией H3K27M развили устойчивость к панобиностату в течение нескольких недель после воздействия низкими дозами препарата. Стоит отметить, что лечение панобиностатом значительно продлевает выживаемость мышей с опухолями без мутации в гене *H3F3A* [31]. Эти результаты привели к иницированию NCT02717455 (clinicaltrials.gov), клинического испытания панобиностата (I фаза – LBH589), проводимого Педиатрическим консорциумом по опухолям головного мозга (PBTС) для лечения детей с рецидивирующими или прогрессирующими ГВСЗ.

В связи с этим, мы обратили особое внимание на изменение концентрации ДНК дикого типа для гена *H3F3A* (K27M), предполагая, что данное явление может стать одним из эффек-

Таблица 1. Корреляционная зависимость между мутантной ДНК гена <i>H3F3A</i> (K27M) и прогрессированием заболевания	
Переменная	Корреляции значимы на уровне $p < 0,05$
	Прогрессирование
K27Mmut в ликворе	0,271440

Таблица 2. Корреляционная зависимость между мутантной ДНК гена <i>H3F3A</i> (K27M) в ликворе и первых двух пробах крови на фоне ЛТ	
Переменная	Отмеченные корреляции значимы на уровне $p < 0,05$
	mut(K27M ликвор)
mut(K27M забор 1)	0,555019
mut(K27M забор 2)	0,384082

Таблица 3. Корреляционная зависимость между мутантной ДНК гена <i>H3F3A</i> (K27M) во втором заборе крови и ликворе, первой и третьей пробах крови на фоне ЛТ мутантного варианта гена, а также гена дикого типа в третьей пробе	
Переменная	Отмеченные корреляции значимы на уровне $p < 0,05$
	mut(K27M забор 2)
mut(K27M ликвор)	0,384082
mut(K27M забор 1)	0,211165
mut(K27M забор 3)	0,360417
wt(K27M забор 3)	0,390472

тивных прогностических маркеров прогрессии опухоли и эффективности проводимой терапии. Анализ взаимных корреляций концентраций ДНК дикого и мутантного типа этого гена в разных фракциях плазмы крови показал ряд интересных зависимостей: так, концентрация мутантной ДНК K27M в люмбальном ликворе имела высоко достоверные корреляции с концентрацией этой же мутантной ДНК в первой и второй фракции плазмы крови (табл. 2).

Также имелась высокая корреляция концентрации мутантной ДНК гена *H3F3A* (K27M) во второй фракции крови с ликвором, с первой фракцией и третьей, а также с уровнем концентрации дикого типа гена в третьем заборе крови (табл. 3).

Оценка результатов исследования мутационного статуса в плазме крови и люмбальном ликворе больных методом ddPCR показала высокую информативность как плазмы крови, так и люмбального ликвора, что находит подтверждение в исследованиях, где при опухолях

головного мозга в крови и люмбальном ликворе обнаруживается именно цоДНК, которая более чувствительна и может отражать различные типы мутаций в клетках глиомы [11, 32, 33]. При этом ранее существовало мнение о том, что: наличие ГЭБ означает, что ликвор может предоставить более детальную характеристику опухоли, чем плазма крови, и содержит определенные биомаркеры, которые вряд ли можно обнаружить в плазме [34]. Однако в нашем исследовании мы выявили высоко достоверные корреляции исследуемых ДНК в плазме крови и люмбальном ликворе. При этом концентрация мутантной ДНК гена *H3F3A* (K27M) в люмбальном ликворе также имела высоко достоверные корреляции с концентрацией ДНК дикого типа гена *H3F3A* (K27M) в первой фракции плазмы крови. Таким образом, оценка ВАФ в плазме крови имеет высокую прогностическую значимость при оценке эффективности проводимой терапии.

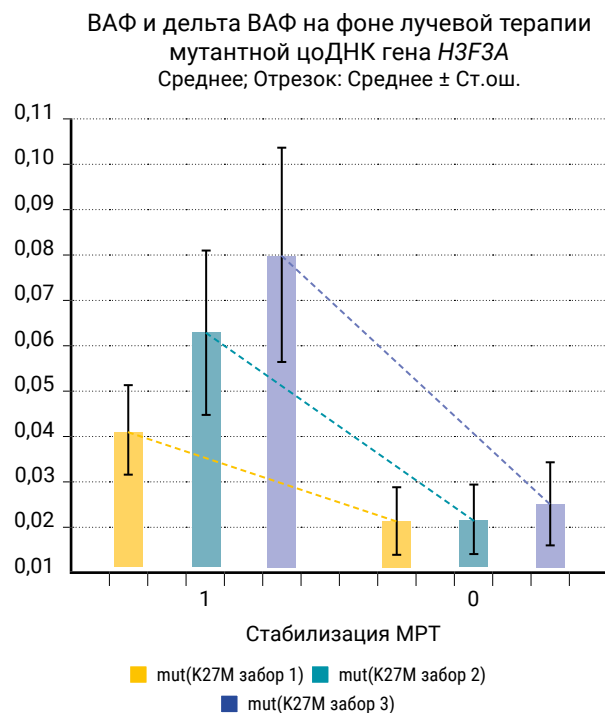


Рис. 3. ВАФ и дельта ВАФ на фоне лучевой терапии мутантной цоДНК гена *H3F3A* (K27M) в плазме крови в группе пациентов с продолженным ростом (группа 1) и со стабилизацией (группа 0) в зависимости от данных МР-исследования головного через 3 месяца после завершения лечения

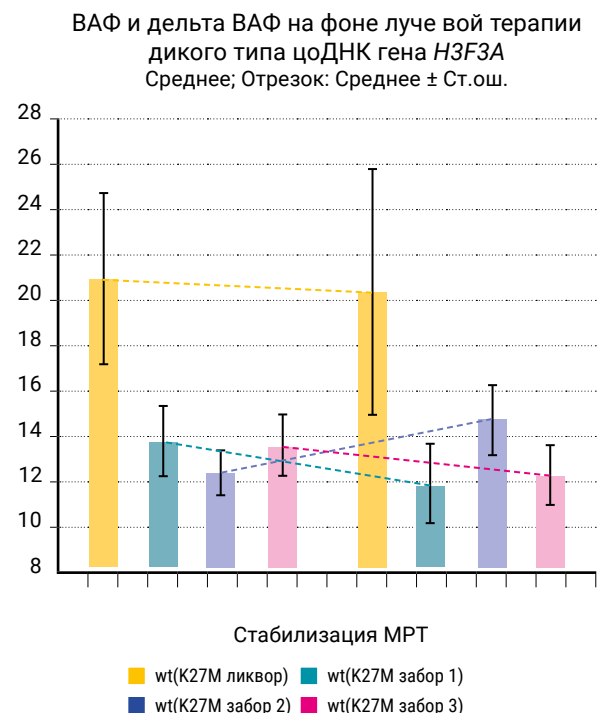


Рис. 4. ВАФ и дельта ВАФ на фоне лучевой терапии дикого типа цоДНК гена *H3F3A* (K27M) в ликворе и плазме крови в группе пациентов с продолженным ростом (группа 1) и со стабилизацией (группа 0) в зависимости от данных МР-исследования головного мозга через 3 месяца после завершения лечения

3. Анализ динамики изменения концентрации свободно циркулирующей ДНК гена *H3F3A* (K27M): дикий и мутантный тип в группе с и без прогрессирования на фоне лучевой терапии

ЛТ как стандартная стратегия лечения ДСГ улучшает качество жизни пациентов: после чего у 70–80 % пациентов наступает временное облегчение симптомов [24, 35, 36]. Однако в сроки 4–9 месяцев болезнь вновь прогрессирует. Ионизирующее излучение (ИИ), применяемое при ЛТ, способно ингибировать рост опухоли, индуцируя повреждение ДНК непосредственно или через активные формы кислорода (АФК) [37]. До сих пор для детей с ДСГ нет предикторов оценки раннего эффекта проводимой ЛТ в процессе лечения, только МРТ контроль головного мозга через 1,5–3 месяца позволит исключить или подтвердить прогрессирование заболевания. Соответственно, невозможно вовремя персонализировать противорецидивную терапию.

В ходе проводимого исследования изучен уровень концентрации и ВАФ мутантной и дикой цоДНК гена *H3F3A* (K27M) для групп со стабилизацией и с прогрессированием на фоне проведения ЛТ. В группе пациентов со стабилизацией концентрация мутантной ДНК гена *H3F3A* (K27M) в крови была ниже в трех пробах плазмы крови в сравнении с уровнем концентрации мутантной цоДНК в группе с ранним прогрессированием. ВАФ не имела тенденции к достоверному увеличению на фоне ЛТ при стабилизации заболевания. Тогда как у детей с выявленным ранним прогрессированием уровень концентрации ВАФ в трех пробах плазмы был в 2–3 раза выше по сравнению с группой благоприятного прогноза, а дельта ВАФ увеличивалась в 2 раза при каждом последующем измерении на фоне ЛТ (рис. 3).

При анализе ВАФ и дельта ВАФ дикого типа цоДНК гена *H3F3A* (K27M) в ликворе и плазме крови, были выявлены следующие закономерности в группе пациентов с прогрессированием (группа 1) и без прогрессирования (группа 0) в зависимости от данных МР-исследования головного мозга через 3 месяца после завершения. Уровень концентрации цоДНК дикого типа гена *H3F3A* (K27M)

в ликворе в начале курса ЛТ был идентичен в обеих группах пациентов. При этом в группе пациентов с ранним прогрессированием (рис. 4) ВАФ цоДНК дикого типа имела следующую картину: уменьшение в процессе ЛТ во второй пробе плазмы и увеличение в третьей пробе на фоне завершения курса ЛТ. Тогда как в группе больных со стабилизацией заболевания, ВАФ цоДНК дикого типа гена *H3F3A* (K27M) отличался в виде увеличения концентрации во второй пробе плазмы и достоверное ее снижение при завершении курса ЛТ. Дельта ВАФ в плазме крови, в первую очередь, свидетельствует о наличии достоверной зависимости между данными показателями и течением заболевания.

Полученные данные доказывают диагностическую ценность цоДНК дикого типа гена *H3F3A* (K27M), позволяя существенным образом расширить возможности молекулярной диагностики и мониторинга эффективности лечения ДСГ. Кроме того, на основании анализа дельта ВАФ в процессе лечения возможно предсказание раннего рецидива опухоли после ЛТ и своевременного начала персонализированной терапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Исследования ВАФ в плазме крови и люмбальном ликворе детей с опухолями срединных структур до начала проведения ЛТ сопоставимы и имеют равную диагностическую ценность.

2. Высокая концентрация в плазме крови ДНК дикого типа гена *H3F3A* (K27M) коррелирует с ранней прогрессией, что также влияет на показатели выживаемости.

3. Динамический контроль концентрации ДНК как мутантного, так и дикого типа гена *H3F3A* (K27M) в плазме крови и люмбальном ликворе у детей с глиомами срединных структур на фоне ЛТ может быть использован для прогноза эффективности ЛТ. Кроме того, на основании анализа динамики уровней концентрации ДНК дикого типа гена *H3F3A* (K27M) в процессе лечения, возможно предсказание раннего рецидива опухоли после ЛТ.

Список источников

1. Kfoury-Beaumont N, Prakasam R, Pondugula S, Lagas JS, Matkovich S, Gontarz P, et al. The H3K27M mutation alters stem cell growth, epigenetic regulation, and differentiation potential. BMC Biol. 2022 May 30;20(1):124. <https://doi.org/10.1186/s12915-022-01324-0>

2. Hauser P. Classification and Treatment of Pediatric Gliomas in the Molecular Era. *Children* (Basel). 2021 Aug 27;8(9):739. <https://doi.org/10.3390/children8090739>
3. Groves A, Cooney TM. Epigenetic programming of pediatric high-grade glioma: Pushing beyond proof of concept to clinical benefit. *Front Cell Dev Biol*. 2022;10:1089898. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.1089898>
4. Louis DN, Perry A, Wesseling P, Brat DJ, Cree IA, Figarella-Branger D, et al. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro Oncol*. 2021 Aug 2;23(8):1231–1251. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noab106>
5. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol*. 2016 Jun;131(6):803–820. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1545-1>
6. Louis DN, Wesseling P, Aldape K, Brat DJ, Capper D, Cree IA, et al. cIMPACT-NOW update 6: new entity and diagnostic principle recommendations of the cIMPACT-Utrecht meeting on future CNS tumor classification and grading. *Brain Pathol*. 2020 Jul;30(4):844–856. <https://doi.org/10.1111/bpa.12832>
7. Funakoshi Y, Hata N, Kuga D, Hatae R, Sangatsuda Y, Fujioka Y, et al. Pediatric Glioma: An Update of Diagnosis, Biology, and Treatment. *Cancers* (Basel). 2021 Feb 12;13(4):758. <https://doi.org/10.3390/cancers13040758>
8. Зайцева М. А., Шехтман А. П., Папуша Л. И., Валиахметова Э. Ф., Ясько Л. А., Друй А. Е. Анализ генетических аберраций в глиомах высокой степени злокачественности у детей. *Успехи молекулярной онкологии*. 2020;7(3):37–47. <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2020-7-3-37-47>, EDN: HCZZEK
9. Meyronet D, Esteban-Mader M, Bonnet C, Joly MO, Uro-Coste E, Amiel-Benouaich A, et al. Characteristics of H3 K27M-mutant gliomas in adults. *Neuro Oncol*. 2017 Aug 1;19(8):1127–1134. <https://doi.org/10.1093/neuonc/now274>
10. Solomon DA, Wood MD, Tihan T, Bollen AW, Gupta N, Phillips JJJ, et al. Diffuse Midline Gliomas with Histone H3-K27M Mutation: A Series of 47 Cases Assessing the Spectrum of Morphologic Variation and Associated Genetic Alterations. *Brain Pathol*. 2016 Sep;26(5):569–580. <https://doi.org/10.1111/bpa.12336>
11. Cantor E, Wierzbicki K, Tarapore RS, Ravi K, Thomas C, Cartaxo R, et al. Serial H3K27M cell-free tumor DNA (cf-tDNA) tracking predicts ONC201 treatment response and progression in diffuse midline glioma. *Neuro Oncol*. 2022 Aug 1;24(8):1366–1374. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noac030>
12. Полянская Е. М., Федянин М. Ю., Боярских У. А., Кечин А. А., Мороз Е. А., Храпов Е. А. и др. Прогностическое значение наличия в крови циркулирующей опухолевой ДНК как маркера минимального резидуального заболевания при колоректальном раке I–III стадии. *Успехи молекулярной онкологии*. 2022;9(2):32–42. <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2022-9-2-32-42>
13. Li Q, Zhang W, Li J, Xiong J, Liu J, Chen T, et al. Plasma circulating tumor DNA assessment reveals KMT2D as a potential poor prognostic factor in extranodal NK/T-cell lymphoma. *Biomark Res*. 2020;8:27. <https://doi.org/10.1186/s40364-020-00205-4>
14. Hamisch C, Kickingereder P, Fischer M, Simon T, Ruge MI. Update on the diagnostic value and safety of stereotactic biopsy for pediatric brainstem tumors: a systematic review and meta-analysis of 735 cases. *J Neurosurg Pediatr*. 2017 Sep;20(3):261–268. <https://doi.org/10.3171/2017.2.PEDS1665>
15. He L, He D, Qi Y, Zhou J, Yuan C, Chang H, et al. Stereotactic Biopsy for Brainstem Lesions: A Meta-analysis with Noncomparative Binary Data. *Cancer Control*. 2021;28:10732748211059858. <https://doi.org/10.1177/10732748211059858>
16. Ng WH, Lim T. Targeting regions with highest lipid content on MR spectroscopy may improve diagnostic yield in stereotactic biopsy. *J Clin Neurosci*. 2008 May;15(5):502–506. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2007.04.005>
17. Azad TD, Jin MC, Bernhardt LJ, Bettgowda C. Liquid biopsy for pediatric diffuse midline glioma: a review of circulating tumor DNA and cerebrospinal fluid tumor DNA. *Neurosurg Focus*. 2020 Jan 1;48(1):E9. <https://doi.org/10.3171/2019.9.FOCUS19699>
18. Li D, Bonner ER, Wierzbicki K, Panditharatna E, Huang T, Lulla R, et al. Standardization of the liquid biopsy for pediatric diffuse midline glioma using ddPCR. *Sci Rep*. 2021 Mar 3;11(1):5098. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84513-1>
19. Tripathy A, John V, Wadden J, Kong S, Sharba S, Koschmann C. Liquid biopsy in pediatric brain tumors. *Front Genet*. 2022;13:1114762. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.1114762>
20. De Mattos-Arruda L, Mayor R, Ng CKY, Weigelt B, Martínez-Ricarte F, Torrejon D, et al. Cerebrospinal fluid-derived circulating tumour DNA better represents the genomic alterations of brain tumours than plasma. *Nat Commun*. 2015 Nov 10;6:8839. <https://doi.org/10.1038/ncomms9839>
21. Seoane J, De Mattos-Arruda L, Le Rhun E, Bardelli A, Weller M. Cerebrospinal fluid cell-free tumour DNA as a liquid biopsy for primary brain tumours and central nervous system metastases. *Ann Oncol*. 2019 Feb 1;30(2):211–218. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdy544>

22. Cantor E, Wierzbicki K, Tarapore RS, Ravi K, Thomas C, Cartaxo R, et al. Serial H3K27M cell-free tumor DNA (cf-tDNA) tracking predicts ONC201 treatment response and progression in diffuse midline glioma. *Neuro Oncol.* 2022 Aug 1;24(8):1366–1374. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noac030>
23. Rheinbay E, Louis DN, Bernstein BE, Suvà ML. A tell-tail sign of chromatin: histone mutations drive pediatric glioblastoma. *Cancer Cell.* 2012 Mar 20;21(3):329–331. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2012.03.001>
24. Schwartzenruber J, Korshunov A, Liu XY, Jones DTW, Pfaff E, Jacob K, et al. Driver mutations in histone H3.3 and chromatin remodelling genes in paediatric glioblastoma. *Nature.* 2012 Jan 29;482(7384):226–231. <https://doi.org/10.1038/nature10833>
25. Wu G, Broniscer A, McEachron TA, Lu C, Paugh BS, Becksfort J, et al. Somatic histone H3 alterations in pediatric diffuse intrinsic pontine gliomas and non-brainstem glioblastomas. *Nat Genet.* 2012 Jan 29;44(3):251–253. <https://doi.org/10.1038/ng.1102>
26. Chan KM, Fang D, Gan H, Hashizume R, Yu C, Schroeder M, et al. The histone H3.3K27M mutation in pediatric glioma reprograms H3K27 methylation and gene expression. *Genes Dev.* 2013 May 1;27(9):985–990. <https://doi.org/10.1101/gad.217778.113>
27. Lewis PW, Müller MM, Koletsky MS, Cordero F, Lin S, Banaszynski LA, et al. Inhibition of PRC2 activity by a gain-of-function H3 mutation found in pediatric glioblastoma. *Science.* 2013 May 17;340(6134):857–861. <https://doi.org/10.1126/science.1232245>
28. Wu G, Diaz AK, Paugh BS, Rankin SL, Ju B, Li Y, et al. The genomic landscape of diffuse intrinsic pontine glioma and pediatric non-brainstem high-grade glioma. *Nat Genet.* 2014 May;46(5):444–450. <https://doi.org/10.1038/ng.2938>
29. Karremann M, Gielen GH, Hoffmann M, Wiese M, Colditz N, Warmuth-Metz M, et al. Diffuse high-grade gliomas with H3 K27M mutations carry a dismal prognosis independent of tumor location. *Neuro Oncol.* 2018 Jan 10;20(1):123–131. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nox149>
30. Jansen MH, Veldhuijzen van Zanten SE, Sanchez Aliaga E, Heymans MW, Warmuth-Metz M, Hargrave D, et al. Survival prediction model of children with diffuse intrinsic pontine glioma based on clinical and radiological criteria. *Neuro Oncol.* 2015 Jan;17(1):160–166. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nou104>
31. Grasso CS, Tang Y, Truffaux N, Berlow NE, Liu L, Debily MA, et al. Functionally defined therapeutic targets in diffuse intrinsic pontine glioma. *Nat Med.* 2015 Jun;21(6):555–559. <https://doi.org/10.1038/nm0715-827a>
32. Wan JCM, Massie C, Garcia-Corbacho J, Mouliere F, Brenton JD, Caldas C, et al. Liquid biopsies come of age: towards implementation of circulating tumour DNA. *Nat Rev Cancer.* 2017 Apr;17(4):223–238. <https://doi.org/10.1038/nrc.2017.7>
33. Westphal M, Lamszus K. Circulating biomarkers for gliomas. *Nat Rev Neurol.* 2015 Oct;11(10):556–566. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2015.171>
34. De Mattos-Arruda L, Mayor R, Ng CKY, Weigelt B, Martínez-Ricarte F, Torrejon D, et al. Cerebrospinal fluid-derived circulating tumour DNA better represents the genomic alterations of brain tumours than plasma. *Nat Commun.* 2015 Nov 10;6:8839. <https://doi.org/10.1038/ncomms9839>
35. Frappaz D, Schell M, Thiesse P, Marec-Bérard P, Mottolese C, Perol D, et al. Preradiation chemotherapy may improve survival in pediatric diffuse intrinsic brainstem gliomas: final results of BSG 98 prospective trial. *Neuro Oncol.* 2008 Aug;10(4):599–607. <https://doi.org/10.1215/15228517-2008-029>
36. Long W, Yi Y, Chen S, Cao Q, Zhao W, Liu Q. Potential New Therapies for Pediatric Diffuse Intrinsic Pontine Glioma. *Front Pharmacol.* 2017;8:495. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00495>
37. Santivasi WL, Xia F. Ionizing radiation-induced DNA damage, response, and repair. *Antioxid Redox Signal.* 2014 Jul 10;21(2):251–259. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5668>

Информация об авторах:

Регентова Ольга Сергеевна ✉ – к.м.н., заведующий отделением лучевой терапии детей с койками онкологии, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0219-7260>, SPIN: 9657-0598, AuthorID: 1011228

Боженко Владимир Константинович – д.м.н., профессор, заведующий отделом молекулярной биологии и экспериментальной терапии опухолей, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8351-8152>, SPIN: 8380-6617, AuthorID: 97295

Кудина Елена Александровна – д.м.н., заведующая клинико-диагностической лабораторией, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5530-0591>, SPIN: 3081-5481, AuthorID: 97295, Scopus Author ID: 24491955100

Регентова О. С.[✉], Боженко В. К., Кудинова Е. А., Кулинич Т. М., Джикия Е. Л., Каминский В. В., Антоненко Ф. Ф., Пархоменко Р. А., Зелинская Н. И., Сидибее Н., Полушкин А. И., Близи́нченко М. А., Солодкий В. А. Изменения концентрации свободной циркулирующей мутантной ДНК и ДНК дикого типа гена *H3F3A* (K27M) в крови и люмбальном ликворе у детей с диффузными срединными глиомами на фоне курса лучевой терапии

Кулинич Татьяна Михайловна – к.м.н., заведующая лабораторией иммунологии и онкоцитологии, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2331-5753>, SPIN: 4697-5143, AuthorID: 171802, Scopus Author ID: 22834710800

Джикия Екатерина Левановна – к.б.н., научный сотрудник лаборатории иммунологии, онкоцитологии и клеточных технологий в онкологии научно-исследовательского отдела молекулярной биологии и экспериментальной терапии опухолей, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8369-2011>, SPIN: 1423-4712, AuthorID: 146408

Каминский Валерий Васильевич – младший научный сотрудник лаборатории клеточной и генной терапии научно-исследовательского отдела молекулярной биологии и экспериментальной терапии опухолей, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5702-6090>, SPIN: 8709-6269, AuthorID: 1028900, Scopus Author ID: 57205879353

Антоненко Федор Федорович – д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией лучевой терапии и комплексных методов лечения онкологических заболеваний, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5900-6755>, SPIN: 6582-8081, AuthorID: 261007, Scopus Author ID: 6602615840

Пархоменко Роман Алексеевич – д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории лучевой терапии и комплексных методов лечения онкологических заболеваний, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация; профессор кафедры онкологии и рентгенодиагностики Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9249-9272>, SPIN: 9902-4244, AuthorID: 702112, Scopus Author ID: 6603021483

Зелинская Наталья Ивановна – к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории лучевой терапии и комплексных методов лечения онкологических заболеваний, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-5380-2056>, SPIN: 4092-4845, AuthorID: 123005

Сидибее Нелли – к.м.н., врач-радиотерапевт отделения лучевой терапии детей с койками онкологии, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5556-0166>, SPIN: 3660-6207, AuthorID: 1108540

Полушкин Павел Владимирович – к.м.н., врач-радиотерапевт отделения лучевой терапии детей с койками онкологии, научный сотрудник лаборатории лучевой терапии и комплексных методов лечения онкологических заболеваний, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6661-0280>, SPIN: 7600-7304, AuthorID: 1099115

Шевцов Андрей Игоревич – к.м.н., врач-радиотерапевт отделения лучевой терапии детей с койками онкологии, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4539-5187>, SPIN: 5605-6768, AuthorID: 996411

Близи́нченко Мария Алексеевна – клинический ординатор по специальности радиотерапия отделения лучевой терапии детей с койками онкологии, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-4300-5759>

Солодкий Владимир Алексеевич – д.м.н., профессор, академик РАН, директор, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1641-6452>, SPIN: 9556-6556, AuthorID: 440543, ResearcherID: T-6803-2017

Вклад авторов:

Регентова О. С. – разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, интерпретация результатов, окончательное утверждение публикуемой версии рукописи, написание текста рукописи;
Боженко В. К. – разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, написание текста рукописи, интерпретация результатов;
Кудинова Е. А. – разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, написание текста рукописи, интерпретация результатов;
Кулинич Т. М. – разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, написание текста рукописи, интерпретация результатов;
Джикия Е. Л. – разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, написание текста рукописи, интерпретация результатов;
Каминский В. В. – обзор публикаций по теме статьи, набор клинического материала, интерпретация результатов;
Антоненко Ф. Ф. – обзор публикаций по теме статьи;
Пархоменко Р. А. – разработка дизайна исследования;
Зелинская Н. И. – обзор публикаций по теме статьи;
Сидибее Н. – обзор публикаций по теме статьи, техническое редактирование;
Полушкин П. В. – обзор публикаций по теме статьи, техническое редактирование;
Шевцов А. И. – обзор публикаций по теме статьи;
Близи́нченко М. А. – обзор публикаций по теме статьи;
Солодкий В. А. – разработка дизайна исследования, окончательное утверждение публикуемой версии рукописи.

Транскриптомный профиль мочи при злокачественных новообразованиях яичника

Д. С. Кутилин^{1✉}, Ф. Е. Филиппов², Н. В. Порханова², А. Ю. Максимов¹

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

² ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1» Министерства здравоохранения Краснодарского края, г. Краснодар, Российская Федерация

✉ k.denees@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Биоинформатический поиск транскриптомных маркеров (на основании метаболомных данных) и их валидация в моче больных серозной аденокарциномой яичников.

Материалы и методы. В исследование было включено 70 пациенток с диагнозом серозная аденокарцинома яичников и 30 условно здоровых индивидуумов. Поиск генов-регуляторов метаболитов и микроРНК регуляторов генов осуществляли с использованием метода машинного обучения Random forest. Выделение рибонуклеиновой кислоты (РНК) производили с помощью набора RNeasy Plus Universal Kits. Уровень транскриптов микроРНК в моче определяли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Оценку различий проводили с использованием критерия Манна-Уитни с поправкой Бонферрони.

Результаты. С использованием метода Random forest были установлены взаимосвязи метаболит-ген регулятор (47 генов) и метаболит-микроРНК регулятор (613 уникальных микроРНК). Выявленные микроРНК были валидированы методом ПЦР в режиме реального времени. Обнаружено изменения уровня транскриптов микроРНК miR-382-5p, miR-593-3p, miR-29a-5p, miR-2110, miR-30c-5p, miR-181a-5p, let-7b-5p, miR-27a-3p, miR-370-3p, miR-6529-5p, miR-653-5p, miR-4742-5p, miR-2467-3p, miR-1909-5p, miR-6743-5p, miR-875-3p, miR-19a-3p, miR-208a-5p, miR-330-5p, miR-1207-5p, miR-4668-3p, miR-3193, miR-23a-3p, miR-12132, miR-765, miR-181b-5p, miR-4529-3p, miR-33b-5p, miR-17-5p, miR-6866-3p, miR-4753-5p, miR-103a-3p, miR-423-5p, miR-491-5p, miR-196b-5p, miR-6843-3p, miR-423-5p и miR-3184-5p в моче пациенток относительно условно-здоровых индивидуумов.

Заключение. Таким образом, транскриптомное профилирование мочи позволило как выявить потенциальные маркеры заболевания, так и лучше понять молекулярные механизмы изменений, лежащих в основе развития рака яичников.

Ключевые слова: микроРНК, полимеразная цепная реакция, машинное обучение, биоинформатика, серозная аденокарцинома яичника, моча, биомаркеры

Для цитирования: Кутилин Д. С., Филиппов Ф. Е., Порханова Н. В., Максимов А. Ю. Транскриптомный профиль мочи при злокачественных новообразованиях яичника. Южно-Российский онкологический журнал. 2024; 5(3): 76-90. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-3-7>, <https://elibrary.ru/zovxqo>

Для корреспонденции: Кутилин Денис Сергеевич – к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии, 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: k.denees@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8942-3733>

SPIN: 8382-4460, AuthorID: 794680

Scopus Author ID: 55328886800

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 № 15 от 14.06.2022 г.). Информированное согласие получено от всех участников исследования

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось. Работа выполнена с использованием научного оборудования ЦКП ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации: <https://ckp-rf.ru/catalog/ckp/3554742/>

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

Статья поступила в редакцию 19.07.2024; одобрена после рецензирования 22.08.2024; принята к публикации 27.08.2024

© Кутилин Д. С., Филиппов Ф. Е., Порханова Н. В., Максимов А. Ю., 2024

Urine transcriptomic profile in terms of malignant ovarian tumors

D. S. Kutilin^{1✉}, F. E. Filippov², N. V. Porkhanova², A. Yu. Maksimov¹

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

² Clinical Oncology Dispensary No. 1, Krasnodar, Russian Federation

✉ k.denees@yandex.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. Bioinformatic search for transcriptomic markers (based on metabolomic data) and their validation in the urine of serous ovarian adenocarcinoma patients.

Materials and methods. The study included 70 patients with serous ovarian adenocarcinoma and 30 conditionally healthy individuals. The search for metabolite regulator genes and gene regulator microRNAs was performed using the Random forest machine learning method. Ribonucleic acid (RNA) was isolated using the RNeasy Plus Universal Kits. The level of microRNA transcripts in urine was determined by real-time PCR. Differences were assessed using the Mann-Whitney test with Bonferroni correction.

Results. Using the Random forest method, metabolite-regulator gene (47 genes) and metabolite-regulator microRNA (613 unique microRNA) relationships were established. The identified microRNAs were validated by real-time PCR. Changes in the levels of microRNA transcripts were detected: miR-382-5p, miR-593-3p, miR-29a-5p, miR-2110, miR-30c-5p, miR-181a-5p, let-7b-5p, miR-27a-3p, miR-370-3p, miR-6529-5p, miR-653-5p, miR-4742-5p, miR-2467-3p, miR-1909-5p, miR-6743-5p, miR-875-3p, miR-19a-3p, miR-208a-5p, miR-330-5p, miR-1207-5p, miR-4668-3p, miR-3193, miR-23a-3p, miR-12132, miR-765, miR-181b-5p, miR-4529-3p, miR-33b-5p, miR-17-5p, miR-6866-3p, miR-4753-5p, miR-103a-3p, miR-423-5p, miR-491-5p, miR-196b-5p, miR-6843-3p, miR-423-5p and miR-3184-5p in the urine of patients compared to conditionally healthy individuals.

Conclusion. Thus, urine transcriptome profiling allowed both to identify potential disease markers and to better understand the molecular mechanisms of changes underlying ovarian cancer development.

Keywords: microRNAs, polymerase chain reaction, machine learning, bioinformatics, ovarian serous adenocarcinoma, urine, biomarkers

For citation: Kutilin D. S., Filippov F. E., Porkhanova N. V., Maksimov A. Yu. Urine transcriptomic profile in terms of malignant ovarian tumors. South Russian Journal of Cancer. 2024; 5(3): 76-90. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-3-7>, <https://elibrary.ru/zovxqo>

For correspondence: Denis S. Kutilin – Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Laboratory of Molecular 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: k.denees@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8942-3733>

SPIN: 8382-4460, AuthorID: 794680

Scopus Author ID: 55328886800

Compliance with ethical standards: the research study is carried out in compliance with the ethical principles set forth by 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 for Oncology (extract from the minutes of the meeting No. 15 dated 06/14/2022). Informed consent was received from all participants of the study

Funding: this work was not funded. The work was performed with scientific equipment provided by the Central Research Institute of the National Medical Research Center for Oncology: <https://ckp-rf.ru/catalog/ckp/3554742/>

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

The article was submitted 19.07.2024; approved after reviewing 22.08.2024; accepted for publication 27.08.2024

ВВЕДЕНИЕ

Рак яичников (РЯ) в настоящее время занимает одну из ведущих позиций по показателям заболеваемости и смертности в мире и Российской Федерации среди гинекологических злокачественных новообразований [1, 2]. РЯ включает множество подтипов опухолей, каждый из которых имеет отличительные биологические и клинические характеристики. Согласно классификации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), выделяют серозную карциному, эндометриоидную карциному, муцинозную карциному, светлоклеточную карциному, злокачественную опухоль Бреннера, серозно-муцинозную карциному, недифференцированную карциному и смешанную эпителиальную карциному [3, 4].

У большинства пациенток РЯ имеет спорадический характер, обычно выявляется поздно, а общая 5-летняя выживаемость составляет всего 30–40 %. Раннее обнаружение РЯ является наиболее важным фактором повышения выживаемости пациенток [5, 6]. Необходимы новые методические подходы, в том числе современные подходы молекулярной биологии, для раннего обнаружения и улучшения диагностики данного заболевания. Применение геномики и метаболомики открыли новую главу исследований, которая позволит разработать новые инструменты для ранней диагностики и мониторинга течения онкологических заболеваний. Достижения в метаболомных подходах с использованием жидкостной или газовой хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией (МС) высокого разрешения открыли новые перспективы для одновременного обнаружения и идентификации биомаркеров в биологических образцах [7].

Проведенное нами ранее исследование [8] метаболомного профиля мочи методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием показало, что у пациенток с серозной карциномой яичников наблюдается дисбаланс в содержании некоторых жирных кислот и их производных, ацилкарнитинов, фосфолипидов, аминокислот и их производных, а также некоторых производных азотистых оснований. При этом 26 метаболитов с аномальной концентрацией в моче могут иметь определенный потенциал в качестве неинвазивных биомаркеров РЯ у женщин, относящихся к группам высокого риска.

Так было показано, что в моче у пациентов с РЯ 14 метаболитов (кинуренин, фенилаланил-валин, лизофосфатидилхолин (18:3), лизофосфатидилхолин (18:2), аланил-лейцин, лизофосфатидилхолин (20:4), L-фенилаланин, фосфатидилинозитол (34:1), 5-метокситриптофан, 2-гидроксимиристиновая кислота, 3-оксохоловая кислота, лизофосфатидилхолин (14:0), индолакриловая кислота, лизофосфатидилсерин (20:4)) имеют значимо более высокую концентрацию по сравнению с условно здоровыми индивидуумами. Содержание 12 соединений, наоборот, было понижено (L-бета-аспартил-L-фенилаланин, миристиновая кислота, деканоилкарнитин, аспартил-глицин, малонилкарнитин, 3-гидроксипиррилкарнитин, 3-метилксантин, 2,6-диметилгептаилкарнитин, 3-оксододекановая кислота, N-ацетилпролин, L-октаноилкарнитин, каприлоилглицин) [8].

Определение ряда указанных выше соединений с высокой точностью в образцах мочи – процедура, требующая дорогостоящего оборудования и осуществляемая только в небольшом количестве медицинских учреждений. В этой связи чрезвычайно актуальным является переход к более доступным прогностическим маркерам, например, к транскриптомным данным. В этом плане особый интерес представляет уровень транскриптов микроРНК в моче [9].

МикроРНК – это короткие некодирующие рибонуклеиновые кислоты (РНК), которые регулируют экспрессию генов катализируя разрушение мРНК, либо ингибируя трансляцию мРНК в белок. Зрелая микроРНК представляет собой одноцепочечную РНК размером порядка 22 нуклеотидов, получающуюся из первичного транскрипта. МикроРНК являются транскрипционными регуляторами и модулируют экспрессию генов путем взаимодействия с комплементарными нуклеотидными последовательностями мРНК-мишеней [10]. МикроРНК вносят значительный вклад в инициацию и развитие различных молекулярных событий, включая инициацию онкогенеза, прогрессирование и метастазирование опухолей, что делает микроРНК потенциальными биомаркерами для оценки прогрессирования и прогноза рака [11]. Изучение регуляторной сети микроРНК-мРНК имеет большое значение как для выяснения молекулярных механизмов, лежащих в основе канцерогенеза, так и создания панели новых биомаркеров.

Цель исследования: биоинформатический поиск транскриптомных маркеров (на основании метаболомных данных) и их валидация в моче больных серозной аденокарциномой яичников.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В проспективное исследование было включено 70 пациенток с диагнозом РЯ (серозная аденокарцинома низкой ($n = 30$) и высокой степени злокачественности ($n = 30$), T1a – 4, T1b – 3, T1c – 5, T2a – 3, T2b – 5, T3a – 14, T3b – 6, T3c – 30) и 30 условно здоровых добровольцев (без каких-либо известных патологий), составляющих контрольную группу.

В качестве объектов исследования использованы образцы мочи. Перед проведением исследования пациенты дали информированное согласие на научное использование биологических образцов. Мочу собирали до начала лечения.

Оценка экспрессии микроРНК

500 мкл образца мочи смешивали с 900 мкл реагента QIAzol (QIAGEN). Дальнейшее выделение тотальной РНК осуществляли с помощью набора RNeasy Plus Universal Kits согласно протоколу производителя. Для выявления зрелых микроРНК и малой РНК U6 использовали метод, предложенный Balcells I. и соавт. [12]. Выделенную суммарную РНК использовали в реакции обратной транскрипции, которая проводилась одновременно с полиаденилированием РНК, с использованием специфичных RT-праймеров. Далее проводилась детекция полученной комплементарной ДНК с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени (ПЦР-РВ).

Дизайн специфичных олигонуклеотидных праймеров осуществляли с использованием алгоритма Balcells I. [12]. Для каждой микроРНК подбирали несколько комплектов олигонуклеотидов, из которых выбирали те, которые характеризовались наиболее высокой эффективностью обратной транскрипции и ПЦР. Эффективность обратной транскрипции оценивали по значениям пороговых циклов (C_t), полученных при анализе синтетических аналогов микроРНК и мРНК (ЗАО «Биосан», Россия), взятых в известной концентрации. Эффективность амплификации (E) для каждой системы оценивали с помощью построения калибровочной кривой, используя для анализа разведения соответствующих РНК, выделенных из клинических проб согласно описанному выше протоколу (усредненное значение E было равно 2,0). Стабильность экспрессии для подбора референсных генов оценивали с помощью алгоритма geNorm [13]. Первоначальный список предлагаемых нормализаторов

для микроРНК включал: miR-191 (экспрессия этой микроРНК была наиболее стабильной в 13 сравниваемых тканях [14]); miR-23a (в качестве нормализатора, подходящего для анализа образцов шейки матки [15] и U6 (традиционно используется в качестве отдельного эталона для нормализации данных экспрессии микроРНК). С помощью алгоритма geNorm для нормализации данных экспрессии микроРНК был выбран U6.

Для каждой микроРНК отдельно проводили реакцию обратной транскрипции в одном повторе. Для обратной транскрипции использовали реакционную смесь, содержащую 1x поли(A) буфер (BioLabs), 10 U/мкл Reverse Transcriptase MMLV (Синтол), 0,1 mM dNTPs (Синтол), 0,1 mM АТФ (BioLabs), 1 μ M RT-праймера, 0,5 U/мкл Poly(A)-полимераза (BioLabs) и 1 мкг тотальной РНК. Реакцию проводили в течение 15 мин. при 16 °C, 15 мин. при 42 °C, затем обратную транскриптазу инактивировали 2 мин. при 95 °C.

Изменение относительной экспрессии микроРНК оценивали методом ПЦР-РВ. Амплификацию проводили в 20 мкл PCR-смеси, содержащей 1x PCR-буфер, 0,25 mM dNTPs, 2 mM $MgCl_2$, 1 ед. акт. Taq-DNA-полимеразы, по 500 нМ прямого и обратного праймеров. Постановку RT-qPCR каждого образца проводили в трех повторах. Полученные смеси инкубировали в амплификаторе CFX 96 (Bio-Rad Laboratories, США) по следующей программе: 2 мин. 94 °C, 50 циклов: денатурация при 95 °C 10 сек., отжиг и элонгация – 63 °C 30 сек. Результаты, соответствующие $C_t > 40$, были признаны отрицательными.

Относительную экспрессию (RE) рассчитывали по формуле $RE = 2^{-\Delta\Delta C_t}$. Нормализацию результатов проводили по референсному локусу и уровню экспрессии соответствующих микроРНК мишеней в образцах контрольной группы, последовательно по схеме, приведенной ниже:

1. Нормализация по референсному локусу: $\Delta C(t) = C(t)_{target} - C(t)_{reference}$, где $C(t)_{reference}$ – $C(t)$ референсного локуса.

2. Расчет $E^{-\Delta C(t)}$ по каждой микроРНК для каждого пациента контрольной группы и основной группы.

3. Расчет медианы $E^{-\Delta C(t)}$ по каждому локусу для контрольной группы и основной группы.

4. Нормализация по контрольной группе и окончательный результат как кратность изменения: $RE = E^{-\Delta C(t)_{медиана основной группы}} / E^{-\Delta C(t)_{медиана контрольной группы}}$ (что тождественно $RE = E^{-\Delta\Delta C(t)}$ [16]).

Статистическая и биоинформационная обработка данных

Оценку различий проводили с использованием критерия Манна Уитни для порогового уровня статистической значимости $p < 0,05$, для учета множественного сравнения использовали поправку Бонферрони. Анализ данных проводился на языке

программирования Python с использованием библиотеки SciPy [17].

Поиск генов-регуляторов метаболитов и микроРНК регуляторов генов осуществляли с использованием метода машинного обучения Random forest («случайный лес»), который сочетает в себе метод бэггинга Бреймана и метод

Таблица 1. Метаболиты и гены регуляторы метаболических путей

Метаболиты*	Гены регуляторы	Ферменты
Кинуренин	<i>KYNU, KMO, KYAT3, IDO</i>	кинурениназа, кинуренин-3-монооксигеназа, кинуренинаминотрансфераза 3, индоламин-пиррол-2,3-диоксигеназа
Фенилаланил-валин	<i>PAH</i>	фенилаланингидроксилаза
Миристиновая кислота	<i>PPARA, PPARGC1A, CYP4Z1, IYD, FASN, PLA2G5, LGALS13</i>	синтаза жирных кислот, домен бета-кетоацилсинтазы, кальций-зависимая фосфолипаза A2, растворимый лектин 13, связывающий галактозид
Лизофосфатидилхолины	<i>PLA2G2A, PLB1, LPCAT1</i>	фосфолипазой A2, лизофосфолипаза, LPC-ацилтрансфераза
Деканоилкарнитин	<i>ACADM, ACADS, CROT</i>	ацил-КоА-дегидрогеназа, карнитиноктаноилтрансфераза (Carnitine O-Octanoyltransferase)
Малонилкарнитин	<i>CPT1, CPT1A, ACADM</i>	пальмитоил-КоА-трансфераза, малонил-КоА-декарбоксилазы
Аланил-лейцин	<i>GAL, PGA3</i>	галанин, пепсиноген А
3-гидроксibuтирилкарнитин	<i>ACADM, CRAT</i>	3-гидрокси-ацилКоА-дегидрогеназа, карнитин-О-ацетилтрансфераза
3-метилксантин	<i>PDE4D</i>	cAMP-specific 3',5'-cyclic phosphodiesterase 4D
L-фенилаланин	<i>PAH, DDC</i>	фенилаланингидроксилаза, ДОФА-декарбоксилаза
Фосфатидилинозитол	<i>PIK3CA, PIK3CB, PIK-3C2A, PLCB1, PIGL</i>	фосфатидилинозитол-3-киназа, 1-фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфатфосфодиэстераза бета-1, N-ацетилглюкозаминил фосфатидилинозитол-де-N-ацетилаза
2,6 диметилгептаноилкарнитин	<i>ACADM, CRAT</i>	3-гидрокси-ацилКоА-дегидрогеназа, карнитин-О-ацетилтрансфераза
5-метокситриптофан	<i>TPH1</i>	триптофангидроксилаза
3-оксодекановая кислота	<i>FASN, OXSM</i>	3-оксоацилсинтаза, синтаза жирных кислот
2-гидроксимиристиновая кислота	<i>NMT1</i>	н-миристоилтрансфераза 1
3-оксохоловая кислота	<i>FABP6</i>	гастротропин
Индолакриловая кислота	<i>KYAT1</i>	кинуренинаминотрансфераза 1 (kynurenine aminotransferase 1)
N-ацетилпролин	<i>APEH</i>	N-ацилпептидгидролаза
L-октаноилкарнитин	<i>CROT, COT, CPT2, CPT1</i>	карнитин-О-октаноилтрансфераза, карнитин-О-пальмитоилтрансфераза 2 (Carnitine O-octanoyltransferase, Carnitine O-palmitoyltransferase 2)
Каприлоилглицин	<i>ACADM, ODC1, GLYATL1</i>	3-гидрокси-ацилКоА-дегидрогеназу, орнитиндекарбоксилаза 1, глицин N-ацилтрансфераза
Лизофосфатидилсерин	<i>GPR34, PLA1A</i>	лизофосфатидилсериновый рецептор 1, фосфолипаза a1

Примечание: * – перечень метаболитов на основании данных статьи [8]

Таблица 2. Метаболиты, гены регуляторы метаболических путей и взаимодействующие с ними микроРНК

Метаболиты	Гены регуляторы	микроРНК
1 Кинуренин	<i>KYNU, KMO, KYAT3, IDO1</i>	KMO: miR-30b-3p, miR-153-5p, miR-149-3p, miR-363-5p, miR-624-3p, miR-937-5p, miR-1233-3p, miR-1238-3p, miR-1972, miR-3200-5p, miR-4319, miR-3689a-5p, miR-3689b-5p, miR-4478, miR-3689e, miR-4695-5p, miR-4724-5p, miR-664b-3p, miR-5684, miR-6758-5p, miR-6780a-5p, miR-6799-5p, miR-6856-5p, miR-6867-5p, miR-6883-5p, miR-6894-5p, miR-6894-5p, miR-7106-5p, miR-7106-5p, miR-1273h-5p, miR-12122. KYNU: miR-30a-3p, miR-200c-3p, miR-382-5p, miR-382-5p, miR-2117, miR-3654, miR-4652-3p, miR-4743-3p, miR-6739-3p, miR-6879-3p, miR-6885-3p, miR-10397-5p, miR-4638-5p, miR-30a-3p, miR-200c-3p, miR-382-5p, miR-382-5p, miR-2117, miR-3654, miR-4652-3p, miR-4743-3p, miR-6739-3p, miR-6879-3p, miR-6885-3p, miR-10397-5p. KYAT3: miR-5692c, miR-5692b, miR-5692c, miR-5692b, miR-5692c, miR-5692b. IDO1: miR-593-3p, miR-891a-3p, miR-5683, miR-6728-3p
2 Фенилаланил-валин	<i>PAH</i>	miR-23a-3p, miR-4502, miR-12132
3 Миристиновая кислота	<i>PPARA, PPARGC1A, CYP4Z1, IYD, FASN, PLA2G5, LGALS13</i>	IYD: miR-760, miR-29a-5p, miR-208a-5p, miR-30b-3p, miR-184, miR-195-3p, miR-320a-3p, miR-373-5p, miR-483-3p, miR-551b-5p, miR-643, miR-646, miR-1224-5p, miR-320b, miR-922, miR-1202, miR-1205, miR-1287-3p, miR-513c-3p, miR-1321, miR-3144-3p, miR-3152-5p, miR-3185, miR-3191-5p, miR-3199, miR-514b-5p, miR-4279, miR-3663-5p, miR-3681-5p, miR-3689a-3p, miR-3689b-3p, miR-4429, miR-4452, miR-3689c, miR-4531, miR-4533, miR-3972, miR-3976, miR-451b, miR-4731-5p, miR-4796-3p, miR-4799-3p, miR-5003-3p, miR-5195-3p, miR-5588-5p, miR-6509-3p, miR-6737-5p, miR-6737-3p, miR-6752-3p, miR-6764-3p, miR-6779-5p, miR-6780a-5p, miR-6824-3p, miR-6829-5p, miR-6830-5p, miR-6849-5p, miR-6849-3p, miR-6882-5p, miR-6894-3p, miR-7106-5p, miR-7844-5p, miR-8052, miR-8069, miR-8078, miR-146a-5p, miR-607, miR-3614-5p, miR-4482-3p, miR-197-3p, miR-744-3p, miR-3187-3p, miR-3652, miR-4420, miR-4430, miR-4633-5p, miR-4642, miR-4781-3p, miR-5698, miR-6499-3p, miR-6787-3p, miR-6843-3p, miR-6848-3p, miR-588, miR-4423-5p, miR-6501-5p CYP4Z1: miR-2110, FASN: miR-30c-5p, LGALS13: miR-4650-3p PLA2G5: miR-765, miR-3682-3p, miR-4533, miR-2467-3p, miR-4786-3p, miR-1253, miR-3191-5p, miR-6847-5p, miR-11181-3p, miR-3916 PPARA: miR-181a-5p, miR-181b-5p, miR-20b-5p, miR-181d-5p, miR-22-3p, miR-140-5p, miR-372-3p, miR-330-5p, miR-331-3p, miR-345-3p, miR-520d-3p, miR-551b-5p, miR-619-5p, miR-622, miR-2113, miR-665, miR-939-3p, miR-1976, miR-3116, miR-3183, miR-4251, miR-3690, miR-550b-2-5p, miR-4436a, miR-4443, miR-4515, miR-4717-5p, miR-4723-5p, miR-4745-5p, miR-4749-5p, miR-4755-3p, miR-5591-5p, miR-6126, miR-6131, miR-6134, miR-6505-3p, miR-6734-3p, miR-6744-3p, miR-6753-3p, miR-6766-5p, miR-6791-5p, miR-6805-3p, miR-6817-5p, miR-6852-5p, miR-6873-3p, miR-6880-5p, miR-7151-3p, miR-8071, let-7b-5p, let-7e-5p, miR-224-3p, miR-302a-3p, miR-326, miR-335-3p, miR-429, miR-511-5p, miR-8085, miR-10394-5p, miR-10524-5p, miR-9851-5p, miR-7107-3p, miR-7110-3p, miR-7155-3p, miR-7158-3p, miR-7976, miR-1233-5p, miR-4651, miR-6757-5p, miR-6778-5p, miR-27a-5p, miR-34a-5p, miR-130b-5p, miR-196b-5p, miR-607, miR-1249-5p, miR-3689d, miR-5006-5p, miR-6756-5p, miR-6788-5p, miR-6797-5p, miR-6851-5p PARGC1A: let-7a-5p, let-7b-5p, let-7c-5p, let-7e-5p, miR-23b-3p, miR-138-5p, miR-409-5p, miR-487a-3p, miR-193b-3p, miR-4458, miR-6884-5p, miR-23a-3p, miR-193a-3p, miR-485-3p, miR-3666, miR-3681-3p, miR-211-5p, miR-485-5p, miR-342-5p, miR-452-5p, miR-511-5p, miR-508-5p, miR-573, miR-659-3p, miR-764, miR-1825, miR-2116-3p, miR-2682-3p, miR-3929, miR-4436a, miR-4649-5p, miR-4664-5p, miR-4713-5p, miR-4728-3p, miR-122b-3p, miR-4768-5p, miR-4769-3p, miR-5003-5p, miR-5006-3p, miR-5011-5p, miR-5591-3p, miR-5685, miR-6124, miR-6740-3p, miR-6818-3p, miR-6833-3p, miR-6845-3p, miR-6892-3p, miR-7110-5p, miR-7703, miR-7850-5p, miR-8075, miR-8485, miR-148a-5p, miR-214-3p, miR-222-3p, miR-9898, miR-6083

Таблица 2 (продолжение). Метаболиты, гены регуляторы метаболических путей и взаимодействующие с ними микроРНК

Метаболиты	Гены регуляторы	микроРНК
4 Лизофосфатидилхолины	<i>PLA2G2A, PLB1, LPCAT1</i>	LPCAT1 : miR-27a-3p, miR-370-3p, miR-4739, miR-4768-3p, miR-4783-3p. PLB1 : miR-3162-5p, miR-4529-3p, miR-4740-5p. PLA2G2A : miR-765, miR-3652, miR-6134, miR-6745, miR-6756-5p, miR-6769a-5p, miR-6785-5p, miR-6769b-5p, miR-7847-3p
5 Деканоилкарнитин	<i>ACADM, ACADS, CROT</i>	CROT : miR-33a-5p, miR-373-3p, miR-33b-5p, miR-17-5p, miR-500a-5p, miR-501-5p, miR-1250-3p, miR-4659b-3p, miR-219b-5p, miR-4795-3p, miR-6807-3p, miR-6867-5p, miR-522-3p, miR-4325, miR-5004-3p, miR-6833-5p, miR-221-3p. ACADM : miR-4437, miR-5580-3p, miR-6529-5p, miR-3184-5p, miR-4704-3p. ACADS : miR-484
6 Малонилкарнитин	<i>CPT1A, ACADM</i>	ACADM : miR-4437, miR-5580-3p, miR-6529-5p, miR-3184-5p, miR-4704-3p. CPT1A : miR-653-5p, miR-328-3p, miR-6866-3p, miR-1296-3p, miR-1322, miR-6883-5p, miR-7-2-3p, miR-335-3p, miR-520a-3p, miR-4310, miR-4287, miR-6718-5p, miR-6785-5p, miR-6869-3p, miR-7856-5p, miR-93-5p, miR-4293, miR-4322, miR-4707-3p, miR-24-3p, miR-6849-3p
7 Аланил-лейцин	<i>GAL, PGA3</i>	GAL : miR-922, miR-4742-5p, miR-4753-5p, miR-4436b-3p, miR-5004-5p, miR-5089-3p, miR-15b-5p, miR-138-1-3p, miR-302d-5p, miR-6810-5p, miR-3976. PGA3 : miR-2467-3p, miR-1909-5p, miR-6743-5p, miR-1913, miR-2115-5p, miR-4646-5p, miR-5006-5p, miR-6857-5p, miR-11399, miR-5008-5p, miR-4649-3p, miR-423-5p, miR-3679-5p, miR-423-3p, miR-1296-3p, miR-3126-5p, miR-6759-3p, miR-3180, miR-6763-5p, miR-769-3p, miR-3139, miR-5571-5p, miR-6768-5p, miR-761, miR-3151-5p, miR-18a-5p, miR-4672, miR-6873-3p, miR-6875-3p, miR-3156-5p, miR-6771-5p, miR-6879-5p, miR-3945
8 3-гидроксibuтирил-карнитин	<i>ACADM, CRAT</i>	ACADM : miR-4437, miR-5580-3p, miR-6529-5p, miR-3184-5p, miR-4704-3p. CRAT : miR-936, miR-1207-5p, miR-6764-5p, miR-7150, miR-10392-3p
9 3-метилксантин	<i>PDE4D</i>	PDE4D : miR-18a-5p, miR-31-5p, miR-148a-3p, miR-301a-3p, miR-148b-3p, miR-875-5p, miR-6766-3p, miR-26a-5p, miR-103a-3p, miR-107, miR-139-5p, miR-362-3p, miR-339-5p, miR-18b-5p, miR-448, miR-487a-3p, miR-4429, miR-203a-3p, miR-211-3p, miR-124-3p, miR-149-5p, miR-99b-3p, miR-372-3p, miR-373-5p, miR-520a-3p, miR-520d-3p, miR-625-5p, miR-641, miR-1301-3p, miR-449c-5p, miR-1266-5p, miR-1321, miR-1912-3p, miR-2114-5p, miR-3125, miR-3187-5p, miR-4261, miR-4280, miR-3646, miR-3689a-5p, miR-3689b-5p, miR-3922-5p, miR-4446-3p, miR-3689d, miR-3689e, miR-4492, miR-4502, miR-4511, miR-3977, miR-4646-5p, miR-4675, miR-4698, miR-4741, miR-4756-5p, miR-4768-3p, miR-5193, miR-1295b-5p, miR-5589-3p, miR-6500-3p, miR-548az-5p, miR-6504-5p, miR-6511a-5p, miR-6512-5p, miR-6809-5p, miR-6809-3p, miR-6829-5p, miR-6839-5p, miR-6859-5p, miR-5787, miR-6077, miR-6796-3p, miR-6860, miR-7114-5p, miR-7151-3p, miR-8080, miR-8081, miR-8086, miR-195-5p, miR-3136-5p, miR-6080, miR-6888-5p, miR-340-5p, miR-4439, miR-3148, miR-6857-3p, miR-497-5p
10 L-фенилаланин	<i>PAH, DDC</i>	PAH : miR-23a-3p, miR-4502, miR-12132. DDC : miR-875-3p, miR-3166, miR-4502, miR-3158-3p

случайных подмножеств. Результатом модели «случайного леса» является предсказанная вероятность того, что целевой ген или микроРНК является истинным регулятором конкретного метаболита [18].

Для выбора минимальных наборов микроРНК использовали LASSO (Least Absolute Shrinkage and Selection Operator) – пенализованную логистическую регрессию на языке программирования R в оболочке Rstudio. Важность переменных определяли путем подсчета числа bootstrap-моделей с ненулевой коэффициентом переменной [19].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Биоинформатический анализ связи метаболомного профиля мочи с экспрессией генов и микроРНК

С использованием метода машинного обучения Random forest, реализованном на языке программирования R, был проведен анализ метаболомных данных из статьи [8], а также баз данных Human Metabolome Database (HMDB, <https://hmdb.ca/metabolites>).

На первом этапе были установлены взаимосвязи метаболит-фермент и фермент-ген регулятор. Результаты представлены в табл. 1.

Таблица 2 (окончание). Метаболиты, гены регуляторы метаболических путей и взаимодействующие с ними микроРНК

Метаболиты	Гены регуляторы	микроРНК
11 Фосфатидилинозитол	<i>PIK3CA, PIK3CB, PIK3C2A, PLCB1, PIGL</i>	PIGL: miR-4651, miR-5087, miR-6499-3p, miR-6739-3p, miR-6764-5p, miR-212-5p, miR-659-3p, miR-3189-3p, miR-3934-3p, miR-378g, miR-4519, miR-6819-5p. PIK3C2A: miR-503-5p, miR-301b-3p, miR-6838-5p, miR-23a-5p, miR-29a-5p, miR-23b-5p, miR-510-5p, miR-1264, miR-2113, miR-1286, miR-3619-3p, miR-4423-3p, miR-4436a, miR-4484, miR-1343-3p, miR-6074, miR-6760-3p, miR-6867-5p, miR-212-5p, miR-150-5p, miR-378a-5p, miR-518a-5p, miR-1224-3p, miR-764, miR-6821-3p. PIK3CA: let-7i-5p, let-7e-5p, miR-19a-3p, miR-19b-3p, let-7g-5p, miR-152-3p, miR-202-5p, miR-4429, miR-198, miR-548e-5p, miR-548o-3p, miR-2114-5p, miR-4430, miR-4493, miR-4659b-3p, miR-122b-5p, miR-4803, miR-5006-3p, miR-6797-3p, miR-1972, miR-2116-5p, miR-3157-5p, miR-3191-5p, miR-514b-5p, miR-4303, miR-4277, miR-3606-5p, miR-3614-3p, miR-3679-3p, miR-676-5p, miR-378g, miR-4446-5p, miR-4477b, miR-4486, miR-4652-3p, miR-6819-5p, miR-6857-5p, miR-6868-3p, miR-6893-3p, miR-7162-3p, miR-10526-3p, miR-12126, miR-139-5p, miR-422a. PIK3CB: miR-23b-3p, miR-362-5p, miR-3666, miR-3064-5p, miR-4465, miR-199a-3p, miR-199b-3p, miR-212-5p, miR-150-5p, miR-6504-5p, miR-204-3p, miR-671-5p, miR-1263, miR-3646, miR-4430, miR-4682, miR-5093, miR-6165, miR-6715a-3p, miR-7850-5p, miR-9500, miR-130b-5p, miR-3619-5p, miR-32-3p, miR-623, miR-542-5p, miR-548j-5p, miR-544b, miR-3614-5p, miR-3652, miR-548aw, miR-5703, miR-8077, miR-2117. PLCB1: miR-103a-3p, miR-107, miR-423-5p, miR-3129-5p, miR-139-5p, miR-124-3p, miR-138-1-3p, miR-302c-5p, miR-876-5p, miR-1244, miR-1322, miR-548s, miR-4267, miR-3692-3p, miR-4433a-3p, miR-4436a, miR-3978, miR-4647, miR-4659a-3p, miR-4670-3p, miR-5194, miR-548az-3p, miR-6783-3p, miR-6860, miR-7151-5p, miR-8056, miR-8063, miR-502-3p.
12 2,6 диметилгептаноил-карнитин	<i>ACADM, CRAT</i>	ACADM: miR-4437, miR-5580-3p, miR-6529-5p, miR-3184-5p, miR-4704-3p. CRAT: miR-936, miR-1207-5p, miR-6764-5p, miR-7150, miR-10392-3p
13 5-метокситриптофан	<i>TPH1</i>	TPH1: miR-320a-3p, miR-450a-2-3p, miR-320b, miR-2110, miR-4435, miR-5693, miR-5702, miR-6830-5p, miR-12118
14 3-оксодекановая к-та	<i>FASN</i>	miR-30c-5p
15 2-гидроксимиристиновая кислота	<i>NMT1</i>	NMT1: miR-181a-5p, miR-214-3p, miR-491-5p, miR-432-5p, miR-922, miR-1202, miR-1205, miR-1972, miR-2110, miR-2682-3p, miR-3160-5p, miR-3176, miR-4303, miR-4291, miR-4447, miR-3972, miR-4667-5p, miR-4690-3p, miR-4700-5p, miR-23b-3p, miR-615-3p
16 3-оксохолоевая кислота	<i>FABP6</i>	FABP6: miR-208a-5p, miR-330-5p, miR-196b-5p, miR-3180-3p, miR-3181, miR-4278, miR-3689f, miR-4754, miR-4786-3p, miR-5190, miR-5195-3p, miR-6745, miR-6751-5p, miR-6769a-5p, miR-6771-5p, miR-6792-5p, miR-6821-5p, miR-7156-3p, miR-10226, miR-10392-5p
17 Индолакриловая кислота	<i>KYAT1</i>	KYAT1: miR-423-5p, miR-6842-5p, miR-597-3p, miR-4710, miR-6741-5p, miR-6796-5p, miR-4447, miR-193b-3p
18 N-ацетилпролин	<i>APEH</i>	miR-1289
19 L-октаноилкарнитин	<i>CROT, CPT2</i>	CROT: miR-33a-5p, miR-373-3p, miR-33b-5p, miR-17-5p, miR-500a-5p, miR-501-5p, miR-1250-3p, miR-4659b-3p, miR-219b-5p, miR-4795-3p, miR-6807-3p, miR-6867-5p, miR-522-3p, miR-4325, miR-5004-3p, miR-6833-5p, miR-221-3p. CPT2: miR-433-3p, miR-6843-3p, miR-6848-3p, miR-208a-5p, miR-6742-3p, miR-34a-5p
20 Каприлоилглицин	<i>ACADM, ODC1, GLYATL1</i>	ACADM: miR-4437, miR-5580-3p, miR-6529-5p, miR-3184-5p, miR-4704-3p. ODC1: miR-423-5p, miR-3184-5p, miR-7973, miR-193b-3p. GLYATL1: miR-1207-5p, miR-4668-3p, miR-4742-3p, miR-4999-5p, miR-664b-3p, miR-6846-3p, miR-6893-3p
21 Лизоосфатидилсерин	<i>GPR34, PLA1A</i>	PLA1A: miR-3153, miR-7110-3p, miR-6754-5p, miR-6887-3p. GPR34: miR-3193, miR-2909, miR-4738-5p, miR-486-3p, miR-6808-5p

Результаты взаимосвязи метаболит-ген-микроРНК представлены в табл. 2 и рис. 1–2. Видно, что содержание выявленных в моче метаболитов регулируется сложной сетью взаимодействий мРНК и микроРНК. Для двух метаболитов – миристиновой кислоты и фосфатидилинозитола выявлено 237 и 143 микроРНК соответственно, регулирующих содержание этих веществ в биологических жидкостях.

Таким образом, при биоинформационном анализе определен список из 613 уникальных микроРНК, участвующих в регуляции концентрации 21 метаболита. Из 613 микроРНК были выбраны только микроРНК с максимальной силой взаимодействия с мРНК генов регуляторов содержания метаболитов. Итоговый перечень содержал 91 микроРНК, представлен в табл. 3.

Таблица 3. Финальный перечень микроРНК, участвующих в регуляции концентрации метаболитов

Метаболиты	микроРНК
1 Кинуренин	KMO : miR-30b-3p, miR-153-5p, miR-149-3p, miR-363-5p. KYNU : miR-30a-3p, miR-200c-3p, miR-382-5p, miR-382-5p. KYAT3 : miR-5692c, miR-5692b, miR-5692c. IDOT : miR-593-3p, miR-891a-3p
2 Фенилаланил-валин	PAH : miR-23a-3p, miR-4502, miR-12132
3 Миристиновая кислота	IYD : miR-760, miR-29a-5p. CYP4Z1 : miR-2110. FASN : miR-30c-5p, LGALS13 : miR-4650-3p. PLA2G5 : miR-765, miR-3682-3p. PPARA : miR-181a-5p, miR-181b-5p, miR-20b-5p. PPARGC1A : let-7a-5p, let-7b-5p, let-7c-5p
4 Лизофосфатидилхолины	LPCAT1 : miR-27a-3p, miR-370-3p, miR-4768-3p. PLB1 : miR-3162-5p, miR-4529-3p. PLA2G2A : miR-765, miR-3652
5 Деканоилкарнитин	CROT : miR-33a-5p, miR-373-3p, miR-33b-5p, miR-17-5p. ACADM : miR-4437, miR-5580-3p, miR-6529-5p. ACADS : miR-484
6 Малонилкарнитин	ACADM : miR-4437, miR-5580-3p, miR-6529-5p. CPT1A : miR-653-5p, miR-328-3p, miR-6866-3p
7 Аланил-лейцин	GAL : miR-922, miR-4742-5p, miR-4753-5p. PGA3 : miR-2467-3p, miR-1909-5p, miR-6743-5p
8 3-гидроксibuтирилкарнитин	ACADM : miR-4437, miR-5580-3p, miR-6529-5p
9 3-метилксантин	PDE4D : miR-18a-5p, miR-31-5p, miR-148a-3p
10 L-фенилаланин	PAH : miR-23a-3p. DDC : miR-875-3p, miR-3166
11 Фосфатидилинозитол	PIGL : miR-4651, miR-5087, miR-6499-3p. PIK3C2A : miR-503-5p, miR-301b-3p. PIK3CA : let-7i-5p, let-7e-5p, miR-19a-3p. PLCB1 : miR-103a-3p, miR-107, miR-423-5p
12 2,6 диметилгептаноилкарнитин	ACADM : miR-4437, miR-5580-3p, miR-6529-5p. CRAT : miR-936, miR-1207-5p
13 5-метокситриптофан	TPH1 : miR-320a-3p, miR-450a-2-3p, miR-320b
14 3-оксододекановая кислота	FASN : miR-30c-5p
15 2-гидроксимиристиновая к-та	NMT1 : miR-181a-5p, miR-214-3p, miR-491-5p
16 3-оксохелевая кислота	FABP6 : miR-208a-5p, miR-330-5p, miR-196b-5p
17 Индолакриловая кислота	KYAT1 : miR-423-5p, miR-6842-5p, miR-597-3p
18 N-ацетилпролин	APEH : miR-1289
19 L-октаноилкарнитин	CROT : miR-33a-5p, miR-373-3p, miR-33b-5p, miR-17-5p. CPT2 : miR-433-3p, miR-6843-3p
20 Каприлоилглицин	ACADM : miR-4437, miR-5580-3p, miR-6529-5p. ODC1 : miR-423-5p, miR-3184-5p. GLYATL1 : miR-1207-5p, miR-4668-3p
21 Лизофосфатидилсерин	PLA1A : miR-3153, miR-7110-3p. GPR34 : miR-3193, miR-2909

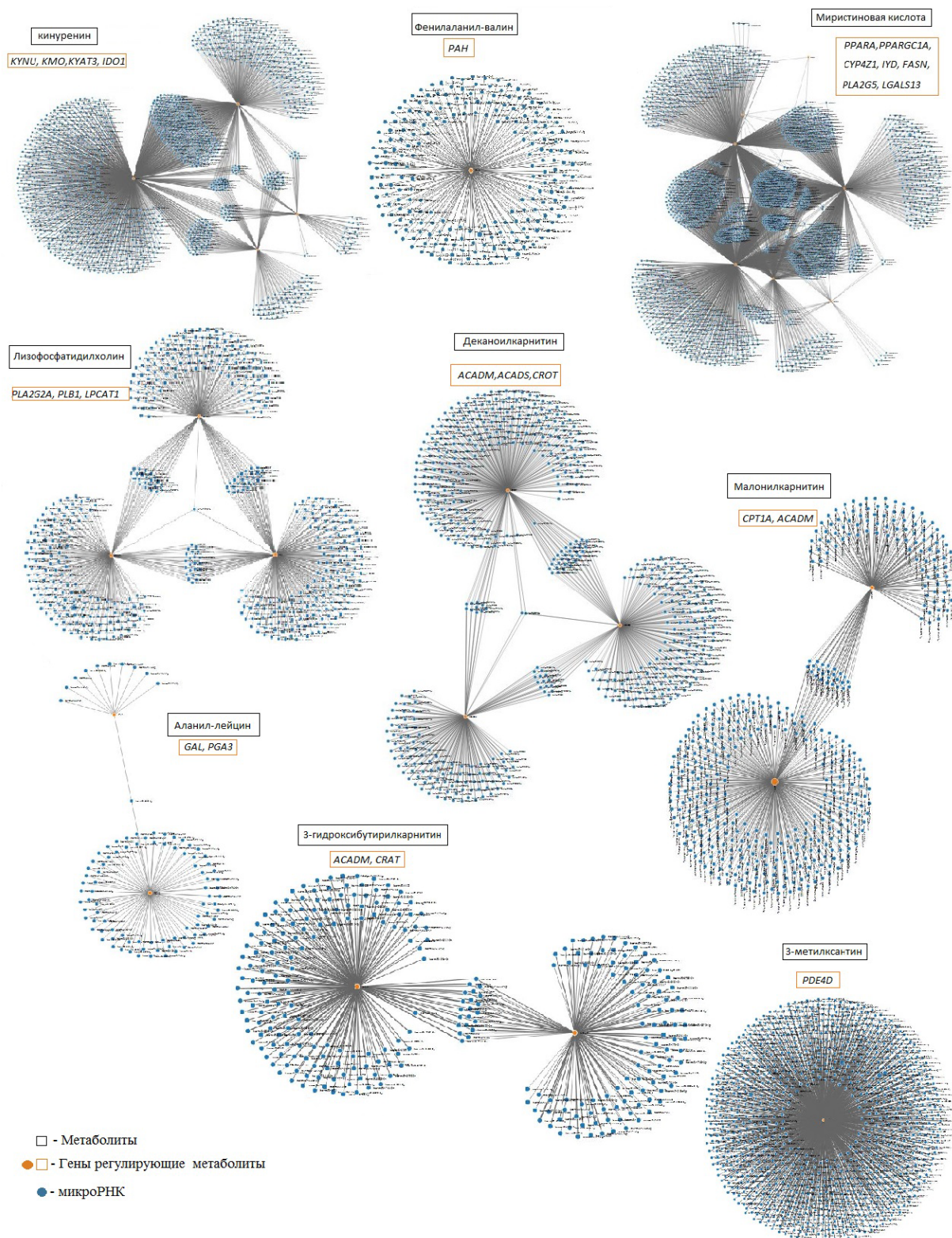


Рис. 1. Метаболиты, гены регуляторы метаболических путей и взаимодействующие с ними микроРНК

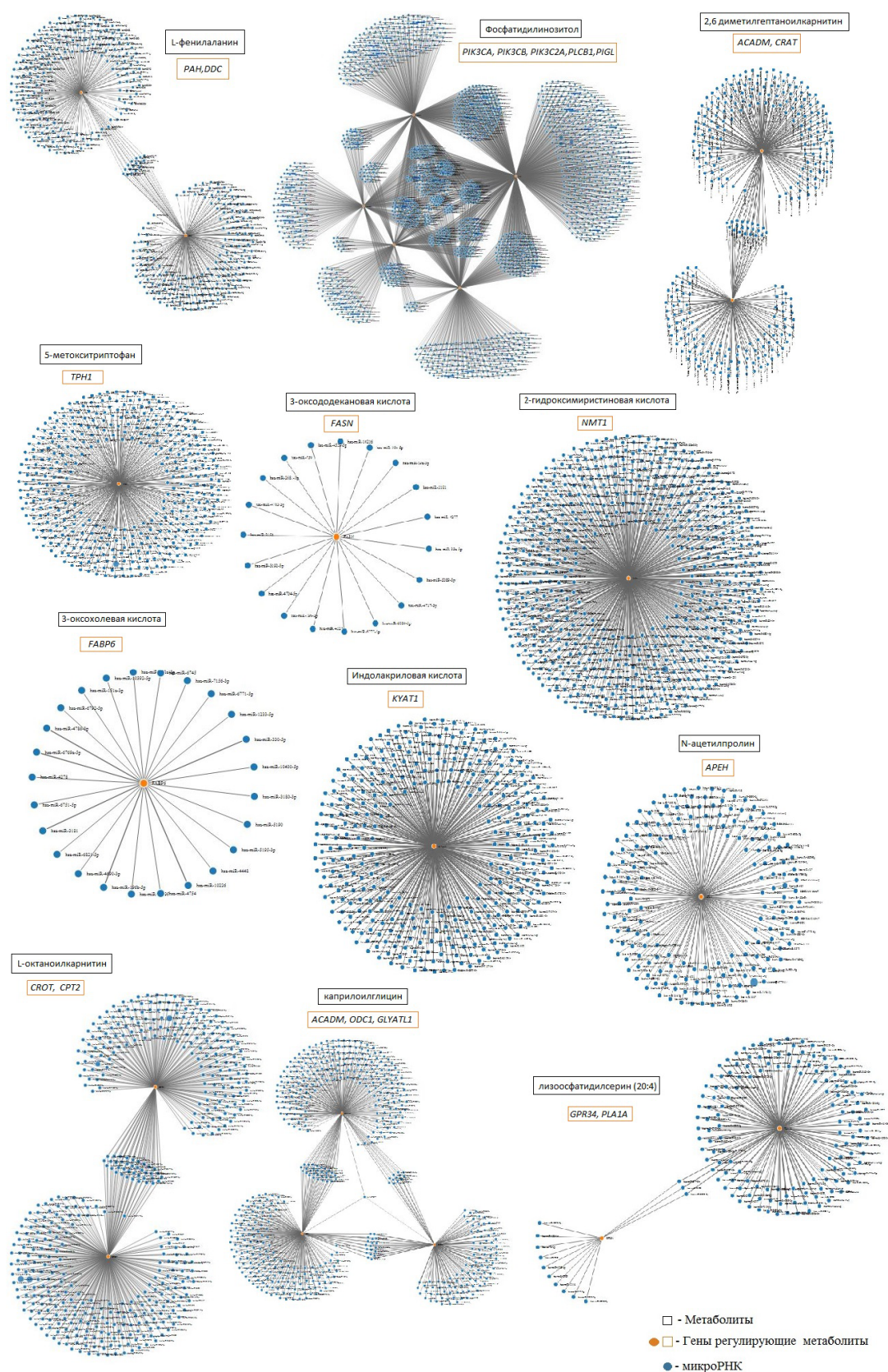


Рис. 2. Метаболиты, гены регуляторы метаболических путей и взаимодействующие с ними микроРНК

Особенности содержания транскриптов микроРНК в моче пациентов с серозной аденокарциномой яичников

Сформированный список из 91 микроРНК, регулирующих активность 37 генов, был использован для валидации методом ПЦР в режиме реального времени на образцах мочи пациенток и условно-здоровых добровольцев.

В моче пациентов с серозной аденокарциномой яичников обнаружено статистически значимое ($p < 0,005$) изменение уровня транскриптов 47 микроРНК относительно условно-здоровых добровольцев (рис. 3).

Обнаружено значительное увеличение ($p < 0,05$) уровня miR-382-5p в 1,9 раза, miR-593-3p в 3,4 раза, miR-29a-5p в 2,6 раза, miR-2110 в 2,5 раза, miR-30c-5p в 2,9 раза, miR-181a-5p в 2,6 раза, let-7b-5p в 2,6 раза, miR-27a-3p в 1,9 раза, miR-370-3p в 2,6 раза, miR-6529-5p в 2,5 раза, miR-653-5p в 2,2 раза, miR-4742-5p в 2,4 раза, miR-2467-3p в 2,6 раза, miR-1909-5p в 3,5 раза, miR-6743-5p в 4,9 раза, miR-875-3p в 2,3 раза, miR-19a-3p в 4,9 раза, miR-208a-5p в 2,6 раза, miR-330-5p в 3,2 раза, miR-1207-5p в 3,5 раза, miR-4668-3p в 4,2 раза, miR-3193 в 2,6 раза относительно их уровня в моче условно-здоровых индивидуумов.

Также обнаружено значительное снижение ($p < 0,05$) уровня miR-23a-3p в 20,0 раз, miR-12132

в 4,0 раза, miR-765 в 1,8 раза, miR-181b-5p в 4,0 раза, miR-4529-3p в 1,8 раза, miR-33b-5p в 3,1 раза, miR-17-5p в 4,6 раза, miR-6866-3p в 1,7 раза, miR-4753-5p в 14,3 раза, miR-103a-3p в 19,6 раза, miR-423-5p в 3,0 раза, miR-491-5p в 1,7 раза, miR-196b-5p в 5,0 раз, miR-6843-3p в 2,3 раза, miR-423-5p в 4,6 раза и miR-3184-5p в 2,6 раза относительно их уровня в моче условно-здоровых индивидуумов.

Таким образом, в моче больных серозной аденокарциномой яичника обнаружен профиль микроРНК miR-382-5p, miR-593-3p, miR-29a-5p, miR-2110, miR-30c-5p, miR-181a-5p, let-7b-5p, miR-27a-3p, miR-370-3p, miR-6529-5p, miR-653-5p, miR-4742-5p, miR-2467-3p, miR-1909-5p, miR-6743-5p, miR-875-3p, miR-19a-3p, miR-208a-5p, miR-330-5p, miR-1207-5p, miR-4668-3p, miR-3193, miR-23a-3p, miR-12132, miR-765, miR-181b-5p, miR-4529-3p, miR-33b-5p, miR-17-5p, miR-6866-3p, miR-4753-5p, miR-103a-3p, miR-423-5p, miR-491-5p, miR-196b-5p, miR-6843-3p, miR-423-5p и miR-3184-5p дифференциальный для пациентов и условно-здоровых индивидуумов.

ОБСУЖДЕНИЕ

В нашем исследовании с применением методов машинного обучения установлены связи между метаболитами, изменившимися концентрации относи-

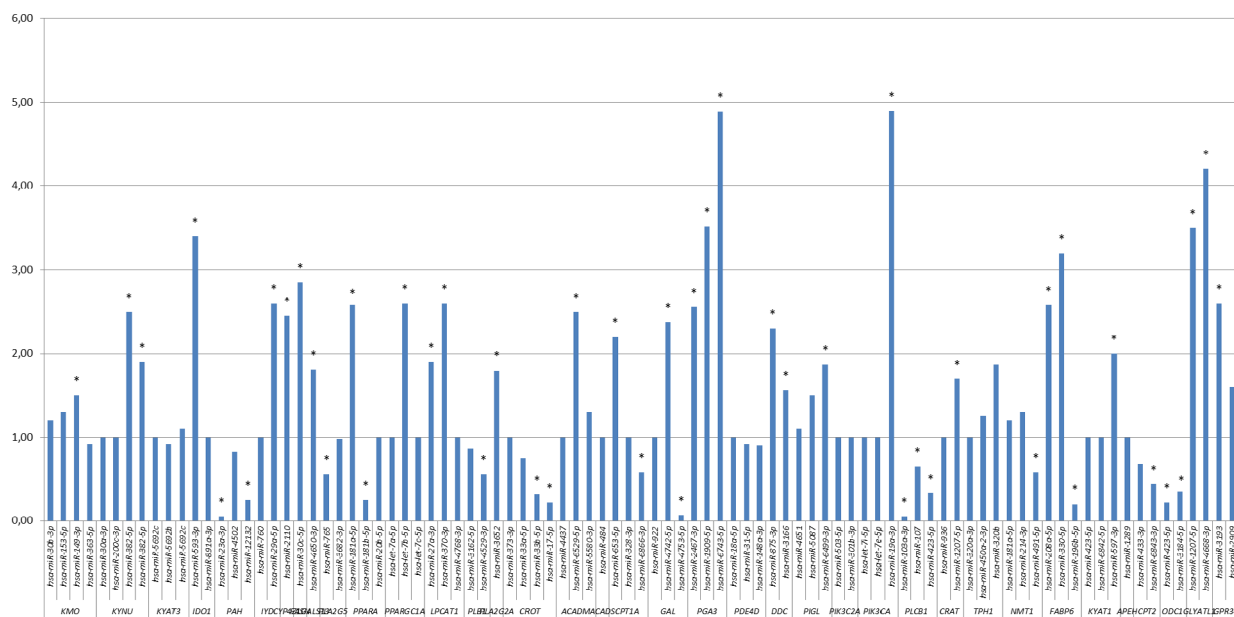


Рис. 3. Изменение уровня транскриптов 91 микро-РНК в моче больных серозной аденокарциномой яичников
Примечание: * – статистически значимое ($p < 0,05$) изменение уровня транскриптов относительно контрольной группы

тельно здоровых доноров, и генами, кодирующими белки участвующие в синтезе и деградации этих метаболитов, а также установлены связи между генами-регуляторами метаболитов и микроРНК-регуляторами этих генов.

При биоинформационном анализе определен список из 613 уникальных микроРНК, участвующих в регуляции концентрации 21 метаболита. Из 613 микроРНК были выбраны только микроРНК с максимальной силой взаимодействия с мРНК генов регуляторов содержания метаболитов. Итоговый перечень содержал 91 микроРНК, из которых 47 изменяли уровень своих транскриптов в моче (валидировано методом ПЦР).

Наиболее значимо у больных РЯ изменялся уровень транскриптов miR-382-5p, miR-593-3p, miR-29a-5p, miR-2110, miR-30c-5p, miR-181a-5p, let-7b-5p, miR-27a-3p, miR-370-3p, miR-6529-5p, miR-653-5p, miR-4742-5p, miR-2467-3p, miR-1909-5p, miR-6743-5p, miR-875-3p, miR-19a-3p, miR-208a-5p, miR-330-5p, miR-1207-5p, miR-4668-3p, miR-3193, miR-23a-3p, miR-12132, miR-765, miR-181b-5p, miR-4529-3p, miR-33b-5p, miR-17-5p, miR-6866-3p, miR-4753-5p, miR-103a-3p, miR-423-5p, miR-491-5p, miR-196b-5p, miR-6843-3p, miR-423-5p и miR-3184-5p относительно их уровня в моче условно-здоровых индивидуумов.

Изменение уровня экспрессии некоторых из этих микроРНК, по данным ряда авторов, ассоциировано с серозным раком яичников: hsa-miR-382-5p, hsa-miR-27a-3p, hsa-miR-1207-5p, hsa-miR-423-5p [20], hsa-miR-593-3p [21], hsa-miR-29a-5p [22, 23], hsa-miR-30c-5p [24, 25] и hsa-miR-30a-5p [26].

Тем не менее, выявленная нами панель микроРНК (miR-382-5p, miR-593-3p, miR-29a-5p, miR-2110, miR-30c-5p, miR-181a-5p, let-7b-5p, miR-27a-3p, miR-370-3p, miR-6529-5p, miR-653-5p, miR-4742-5p, miR-2467-3p, miR-1909-5p, miR-6743-5p, miR-875-3p, miR-19a-3p, miR-208a-5p, miR-330-5p, miR-1207-5p, miR-4668-3p, miR-3193, miR-23a-3p, miR-12132, miR-765, miR-181b-5p, miR-4529-3p, miR-33b-5p, miR-17-5p, miR-6866-3p, miR-4753-5p,

miR-103a-3p, miR-423-5p, miR-491-5p, miR-196b-5p, miR-6843-3p, miR-423-5p и miR-3184-5p) является уникальной и в таком сочетании в литературных источниках не представлена.

Очевидно, транскриптомный дисбаланс начинается в тканях и приводит к дисбалансу метаболомному, что в итоге отражается на составе биологических жидкостей организма, в том числе моче.

Современная клиническая онкогинекология испытывает серьезную потребность в эффективных биомаркерах, изменение уровней которых может служить доказательством возникновения злокачественного процесса. Неинвазивный и недорогой ПЦР анализ микроРНК в моче делает его особенно привлекательным инструментом скрининга. Применение данного подхода может позволить проводить частое тестирование женщин, принадлежащих к группам высокого риска и обеспечить длительное наблюдение за пациентами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Биоинформатический анализ выявил перечень из 613 уникальных микроРНК, участвующих в регуляции 21 метаболита. При этом изменение уровня транскриптов 38 микроРНК (miR-382-5p, miR-593-3p, miR-29a-5p, miR-2110, miR-30c-5p, miR-181a-5p, let-7b-5p, miR-27a-3p, miR-370-3p, miR-6529-5p, miR-653-5p, miR-4742-5p, miR-2467-3p, miR-1909-5p, miR-6743-5p, miR-875-3p, miR-19a-3p, miR-208a-5p, miR-330-5p, miR-1207-5p, miR-4668-3p, miR-3193, miR-23a-3p, miR-12132, miR-765, miR-181b-5p, miR-4529-3p, miR-33b-5p, miR-17-5p, miR-6866-3p, miR-4753-5p, miR-103a-3p, miR-423-5p, miR-491-5p, miR-196b-5p, miR-6843-3p, miR-423-5p и miR-3184-5p) в моче имеет диагностический потенциал при раке яичников и является основой для дальнейших исследований. Таким образом, транскриптомное профилирование мочи позволило как выявить потенциальные маркеры заболевания, так и лучше понять молекулярные механизмы изменений, лежащих в основе развития РЯ.

Список источников

1. Reid BM, Permut JB, Sellers TA. Epidemiology of ovarian cancer: a review. *Cancer Biol Med*. 2017 Feb;14(1):9–32. <https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2016.0084>
2. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, Г. В. Петровой. М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2019, 250 с.

3. Цандекова М. Р., Порханова Н. В., Кутилин Д. С. Молекулярная характеристика серозной аденокарциномы яичника: значение для диагностики и лечения. *Современные проблемы науки и образования*. 2020;(1):55. <https://doi.org/10.17513/spno.29428>, EDN: LTMXTL
4. Meinhold-Heerlein I, Fotopoulou C, Harter P, Kurzedder C, Mustea A, Wimberger P, et al. The new WHO classification of ovarian, fallopian tube, and primary peritoneal cancer and its clinical implications. *Arch Gynecol Obstet*. 2016 Apr;293(4):695–700. <https://doi.org/10.1007/s00404-016-4035-8>
5. Rooth C. Ovarian cancer: risk factors, treatment and management. *Br J Nurs*. 2013 Sep 12;22(17):S23–30. <https://doi.org/10.12968/bjon.2013.22.Sup17.S23>
6. Swiatly A, Plewa S, Matysiak J, Kokot ZJ. Mass spectrometry-based proteomics techniques and their application in ovarian cancer research. *J Ovarian Res*. 2018 Oct 1;11(1):88. <https://doi.org/10.1186/s13048-018-0460-6>
7. Veenstra TD. Metabolomics: the final frontier? *Genome Med*. 2012 Apr 30;4(4):40. <https://doi.org/10.1186/gm339>
8. Гуськова О. Н., Аллилуев И. А., Вереникина Е. В., Половодова В. В., Рогозин М. А., Мягкова Т. Ю. и др. Изменение концентрации метаболитов в моче как малоинвазивный маркер серозной аденокарциномы яичников. *Российский биотерапевтический журнал*. 2023;22(3):43–50. <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2023-22-3-43-50>, EDN: KRLBXC
9. Schmidt DR, Patel R, Kirsch DG, Lewis CA, Vander Heiden MG, Locasale JW. Metabolomics in cancer research and emerging applications in clinical oncology. *CA Cancer J Clin*. 2021 Jul;71(4):333–358. <https://doi.org/10.3322/caac.21670>
10. Димитриади Т. А., Бурцев Д. В., Дженкова Е. А., Кутилин Д. С. МикроРНК как маркеры прогрессирования предраковых заболеваний в рак шейки матки. *Современные проблемы науки и образования*. 2020;(1):99. <https://doi.org/10.17513/spno.29529>, EDN: SPESSH
11. Abdelsattar ZM, Wong SL, Regenbogen SE, Jomaa DM, Hardiman KM, Hendren S. Colorectal cancer outcomes and treatment patterns in patients too young for average-risk screening. *Cancer*. 2016 Mar 15;122(6):929–934. <https://doi.org/10.1002/cncr.29716>
12. Balcells I, Cirera S, Busk PK. Specific and sensitive quantitative RT-PCR of miRNAs with DNA primers. *BMC Biotechnol*. 2011 Jun 25;11:70. <https://doi.org/10.1186/1472-6750-11-70>
13. Vandesompele J, De Preter K, Pattyn F, Poppe B, Van Roy N, De Paeppe A, et al. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biol*. 2002 Jun 18;3(7):RESEARCH0034. <https://doi.org/10.1186/gb-2002-3-7-research0034>
14. Peltier HJ, Latham GJ. Normalization of microRNA expression levels in quantitative RT-PCR assays: identification of suitable reference RNA targets in normal and cancerous human solid tissues. *RNA*. 2008 May;14(5):844–852. <https://doi.org/10.1261/rna.939908>
15. Shen Y, Li Y, Ye F, Wang F, Wan X, Lu W, et al. Identification of miR-23a as a novel microRNA normalizer for relative quantification in human uterine cervical tissues. *Exp Mol Med*. 2011 Jun 30;43(6):358–366. <https://doi.org/10.3858/emm.2011.43.6.039>
16. Кутилин Д. С., Димитриади С. Н., Водолажский Д. И., Франциянц Е. М., Кит О. И. Влияние тепловой ишемии-реперфузии на экспрессию апоптоз-регулирующих генов в почечной ткани больных с почечно-клеточным раком. *Нефрология*. 2017;21(1):80–86. <https://doi.org/10.24884/1561-6274-2017-21-1-80-86>, EDN: XVGWWP
17. Jones E, Oliphant E, Peterson P. SciPy: Open source scientific tools for python. 2001.
18. Ding J, Li X, Hu H. TarPmiR: a new approach for microRNA target site prediction. *Bioinformatics*. 2016 Sep 15;32(18):2768–2775. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw318>
19. Цандекова М. Р., Порханова Н. В., Кит О. И., Кутилин Д. С. Малоинвазивная молекулярная диагностика серозной аденокарциномы яичника высокой и низкой степени злокачественности. *Онкогинекология*. 2021;(4(40)):35–50. https://doi.org/10.52313/22278710_2021_4_35, EDN: ACKKXS
20. Li Y, Yao L, Liu F, Hong J, Chen L, Zhang B, et al. Characterization of microRNA expression in serous ovarian carcinoma. *Int J Mol Med*. 2014 Aug;34(2):491–498. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2014.1813>
21. Han Y, Zheng Y, You J, Han Y, Lu X, Wang X, et al. Hsa_circ_0001535 inhibits the proliferation and migration of ovarian cancer by sponging miR-593-3p, upregulating PTEN expression. *Clin Transl Oncol*. 2023 Oct;25(10):2901–2910. <https://doi.org/10.1007/s12094-023-03152-2>
22. Resnick KE, Alder H, Hagan JP, Richardson DL, Croce CM, Cohn DE. The detection of differentially expressed microRNAs from the serum of ovarian cancer patients using a novel real-time PCR platform. *Gynecol Oncol*. 2009 Jan;112(1):55–59. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2008.08.036>

23. Kwon JJ, Factora TD, Dey S, Kota J. A Systematic Review of miR-29 in Cancer. *Mol Ther Oncolytics*. 2019 Mar 29;12:173–194. <https://doi.org/10.1016/j.omto.2018.12.011>
24. Wu Q, Li G, Gong L, Cai J, Chen L, Xu X, et al. Identification of miR-30c-5p as a tumor suppressor by targeting the m6 A reader HNRNPA2B1 in ovarian cancer. *Cancer Med*. 2023 Feb;12(4):5055–5070. <https://doi.org/10.1002/cam4.5246>
25. Zhou J, Gong G, Tan H, Dai F, Zhu X, Chen Y, et al. Urinary microRNA-30a-5p is a potential biomarker for ovarian serous adenocarcinoma. *Oncol Rep*. 2015 Jun;33(6):2915–2923. <https://doi.org/10.3892/or.2015.3937>
26. Gasparri ML, Casorelli A, Bardhi E, Besharat AR, Savone D, Ruscito I, et al. Beyond circulating microRNA biomarkers: Urinary microRNAs in ovarian and breast cancer. *Tumour Biol*. 2017 May;39(5):1010428317695525. <https://doi.org/10.1177/1010428317695525>

Информация об авторах:

Кутилин Денис Сергеевич ✉ – к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8942-3733>, SPIN: 8382-4460, AuthorID: 794680, Scopus Author ID: 55328886800

Филиппов Федор Евгеньевич – врач онколог отделения онкогинекологии, ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1» Министерства здравоохранения Краснодарского края, г. Краснодар, Российская Федерация

Порханова Наталья Владимировна – д.м.н., доцент кафедры онкологии, врач онколог, ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1» Министерства здравоохранения Краснодарского края, г. Краснодар, Российская Федерация
SPIN: 2611-4840, AuthorID: 589928

Максимов Алексей Юрьевич – д.м.н., профессор, заместитель генерального директора, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9471-3903>, SPIN: 7322-5589, AuthorID: 710705, Scopus Author ID: 56579049500

Вклад авторов:

Кутилин Д. С. – концепция и дизайн исследования, проведение эксперимента, биоинформатический анализ, написание рукописи;
Филиппов Ф. Е. – проведение эксперимента, написание рукописи;
Порханова Н. В. – статистическая обработка данных;
Максимов А. Ю. – редактирование рукописи.

Метаболомный профиль злокачественных опухолей яичника

Ф. Е. Филиппов², Д. С. Кутилин^{1✉}, А. Ю. Максимов¹, Н. В. Порханова²

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

² ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1» Министерства здравоохранения Краснодарского края, г. Краснодар, Российская Федерация

✉ k.denees@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучение метаболомного профиля в тканях у больных серозной аденокарциномой яичников.

Материалы и методы. В исследование было включено 100 пациенток с диагнозом серозная аденокарцинома яичников. Хроматографическое разделение метаболитов проводили на хроматографе Vanquish Flex UHPLC System, который был сопряжен с масс-спектрометром Orbitrap Exploris 480. Оценку различий проводили с использованием критерия Манна-Уитни с поправкой Бонферрони.

Результаты. В опухолевой ткани яичника 20 соединений имели аномальную концентрацию по сравнению с нормальной тканью: обнаружено увеличение содержания кинуренина, фенилаланил-валина, лизофосфатидилхолина (18:3), лизофосфатидилхолина (18:2), аланил-лейцина, L-фенилаланина, фосфатидилинозитола (34:1), 5-метокситриптофана, лизофосфатидилхолина (14:0), индолакриловой кислоты и снижение содержания миристиновой кислоты, деканоилкарнитина, аспартил-глицина, малонилкарнитина, 3-метилксантина, 3-оксодекановой кислоты, 2-гидроксимиристиновой кислоты, N-ацетилпролина, L-октаноилкарнитина и каприлоилглицина.

Заключение. В опухолевой ткани яичника обнаружен значительный метаболомный дисбаланс, выраженный в аномальных концентрациях жирных кислот и их производных, ацилкарнитинов, аминокислот и их производных, фосфолипидов и производных азотистых оснований. Концентрации этих 20 метаболитов в тканях могут служить диагностическими маркерами рака яичников. Таким образом, метаболомное профилирование тканей позволило как выявить потенциальные маркеры заболевания, так и лучше понять молекулярные механизмы изменений, лежащих в основе развития данного заболевания.

Ключевые слова: метаболиты, ультравысокоэффективная жидкостная хроматография и масс-спектрометрия, серозная аденокарцинома яичника, биомаркеры

Для цитирования: Филиппов Ф. Е., Кутилин Д. С., Максимов А. Ю., Порханова Н. В. Метаболомный профиль злокачественных опухолей яичника. Южно-Российский онкологический журнал. 2024; 5(3): 91-101. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-3-8>, <https://elibrary.ru/avxoui>

Для корреспонденции: Кутилин Денис Сергеевич – к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии, 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: k.denees@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8942-3733>

SPIN: 8382-4460, AuthorID: 794680

Scopus Author ID: 55328886800

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 № 17 от 28.06.2022 г.). Информированное согласие получено от всех участников исследования

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось. Работа выполнена с использованием научного оборудования ЦКП ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации: <https://ckp-rf.ru/catalog/ckp/3554742/>

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

Статья поступила в редакцию 21.07.2024; одобрена после рецензирования 27.08.2024; принята к публикации 29.08.2024

© Филиппов Ф. Е., Кутилин Д. С., Максимов А. Ю., Порханова Н. В., 2024

Metabolomic profile of malignant ovarian tumors

F. E. Filippov², D. S. Kutilin^{1✉}, A. Yu. Maksimov¹, N. V. Porkhanova²

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

² Clinical Oncology Dispensary No. 1, Krasnodar, Russian Federation

✉ k.denees@yandex.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. Investigate the metabolomic profile in tissues of patients with serous ovarian adenocarcinoma.

Materials and methods. The study included 100 patients with serous ovarian adenocarcinoma. Chromatographic separation of metabolites was performed on a Vanquish Flex UHPLC System chromatograph, which was coupled with an Orbitrap Exploris 480 mass spectrometer. Differences were assessed using the Mann-Whitney test with Bonferroni correction.

Results. In ovarian tumor tissue, 20 compounds had abnormal concentrations compared to normal tissue: increased levels of kynurenine, phenylalanylvaline, lysophosphatidylcholine (18:3), lysophosphatidylcholine (18:2), alanylleucine, L-phenylalanine, phosphatidylinositol (34:1), 5-methoxytryptophan, lysophosphatidylcholine (14:0), indoleacrylic acid and decreased levels of myristic acid, decanoylcarnitine, aspartylglycine, malonylcarnitine, 3-methylxanthine, 3-oxododecanoic acid, 2-hydroxymyristic acid, N-acetylproline, L-octanoylcarnitine and capryloylglycine.

Conclusion. A significant metabolic imbalance was found in ovarian tumor tissue, expressed in abnormal concentrations of fatty acids and their derivatives, acylcarnitines, amino acids and their derivatives, phospholipids and nitrogenous base derivatives. The concentrations of these 20 metabolites in tissues can serve as diagnostic markers of ovarian cancer. Thus, metabolomic tissue profiling allowed both to identify potential markers of the disease and to better understand the molecular mechanisms of changes underlying the development of this disease.

Keywords: metabolites, ultra-high performance liquid chromatography and mass spectrometry, ovarian serous adenocarcinoma, biomarkers

For citation: Filippov F. E., Kutilin D. S., Maksimov A. Yu., Porkhanova N. V. Metabolomic profile of malignant ovarian tumors. South Russian Journal of Cancer. 2024; 5(3): 91-101. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-3-8>, <https://elibrary.ru/avxoui>

For correspondence: Denis S. Kutilin – PhD in Biology, Leading Researcher, Laboratory of Molecular 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: k.denees@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8942-3733>

SPIN: 8382-4460, AuthorID: 794680

Scopus Author ID: 55328886800

Compliance with ethical standards: the research study is carried out in compliance with the ethical principles set forth by 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 for Oncology (extract from the minutes of the meeting No. 17 dated 06/28/2022). Informed consent was received from all participants of the study

Funding: this work was not funded. The work was performed with scientific equipment provided by the Central Research Institute of the National Medical Research Center for Oncology, the Russian Federation Ministry of Health: <https://ckp-rf.ru/catalog/ckp/3554742/>

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

The article was submitted 21.07.2024; approved after reviewing 27.08.2024; accepted for publication 29.08.2024

ВВЕДЕНИЕ

В последнее десятилетие среди онкогинекологических заболеваний рак яичников занимает ведущие позиции по показателям заболеваемости и смертности в мире и России [1, 2]. Злокачественные опухоли яичников делятся на множество гистологических подтипов, каждый из которых имеет отличительные биологические и клинические характеристики. Выделяют серозную карциному, эндометриоидную карциному, муцинозную карциному, светлоклеточную карциному, злокачественную опухоль Бреннера, серозно-муцинозную карциному, недифференцированную карциному и смешанную эпителиальную карциному. Серозная аденокарцинома является наиболее распространенным подтипом [3, 4].

Общая пятилетняя выживаемость больных раком яичников не превышает 40 %, что обусловлено не своевременной диагностикой. На сегодняшний день чувствительность и специфичность основных методов диагностики данного заболевания недостаточны для его выявления на ранней стадии [5, 6]. Необходимы новые подходы для улучшения диагностики. Методы метаболомики основанные на жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии (МС) высокого разрешения открывают новые перспективы для обнаружения и идентификации биомаркеров в фемтомолярном и аттомолярном диапазонах.

Так в работе Y. Ahmed-Salim с соавт. проанализированы результаты 32 публикаций в области метаболомных исследований при раке яичника. В большинстве исследований сообщалось о нарушении регуляции фосфолипидов и аминокислот: гистидина, цитруллина, аланина и метионина. При этом комбинации более чем одного метаболита в качестве панели в различных исследованиях достигали более высокой чувствительности и специфичности для диагностики, чем один метаболит; например, комбинации различных фосфолипидов [7].

В работе [8] была подтверждена роль гистидина и цитруллина в развитии рака яичников, а также обнаружены новые липидные соединения (лизофосфатидилхолин C16:1, фосфатидилхолин C32:2, C34:4 и C36:6), потенциально участвующие в метаболизме рака.

Однако подобные исследования при раке яичника не многочисленны по сравнению с геномными и транскриптомными и большая часть из них выполнена на оборудовании с более низкой разрешающей спо-

собностью и принципом работы отличным от технологии Orbitrap [9], а в качестве биоматериала использованы не ткани опухоли, а биологические жидкости пациентов, такие как моча [10] или кровь [11].

Цель исследования: изучение метаболомного профиля тканей больных серозной аденокарциномой яичников для выявления потенциальных диагностических маркеров заболевания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 100 пациенток с диагнозом серозная аденокарцинома яичников (Т3а-с). В качестве объектов исследования использовали образцы нормальной и опухолевой ткани, полученные на этапе хирургического лечения. Средний возраст пациенток составил 54,2 года.

Анализ метаболитов методом УВЭЖХ-МС

Для анализа использовали операционные биоптаты опухолевой и нормальной ткани яичника, которые до момента метаболомного и молекулярно-генетического исследования хранились в жидком азоте. Образцы гомогенизировали при температуре не выше 4 °С. Гомогенат смешивали с 600 мкл ацетонитрила LC-MS (Merck, Германия)/метанола LC-MS (Merck, Германия) в соотношении 3/1, перемешивали 15 мин. с использованием вортекса и инкубировали 15 ч. при –20 °С. Центрифугированием при 16 000 g 0 °С в течение 30 мин. осаждали белки. Супернатант переносили в чистые пробирки эппендорф. Растворитель упаривали при 45 °С в течение 4 ч. на вакуумном испарителе SpeedVac (Eppendorf). Полученный сухой осадок растворяли в 300 мкл 95 % раствора ацетонитрила LC-MS (Merck, Германия) с добавлением 0,1 % муравьиной кислоты (Merck, Германия). Для лучшего растворения осадка пробы обрабатывали ультразвуком в ультразвуковой ванне Elmasonic P 120 H (ELMA, Германия). Далее пробы центрифугировали 30 мин. при 16 000 g и полученный супернатант использовали для хроматомасс-спектрометрического анализа.

Хроматографическое разделение метаболитов проводили на хроматографе Vanquish Flex UHPLC System Thermo Fisher Scientific. Хроматограф был сопряжен с масс-спектрометром Orbitrap Exploris 480, имеющем электроспрейный источник ионизации. Пробу метаболитов в объеме 2 мкл разделяли на колонке Hypersil GOLD™ C18 (1,9 мкм, 150 × 2,1 мм), элюенты: А – 0,1 % муравьиная кисло-

та LC–MS (Merck, Германия), Б – ацетонитрил LC–MS (Merck, Германия), содержащий 0,1 % муравьиной кислоты (Merck, Германия). Использовали следующий градиент элюции: 1 мин. – 5 % элюента Б, 15 мин. – линейный градиент элюента Б с 5 до 95 %, 2 мин. – 95 % элюента Б, 0,5 мин. – смена элюирующего состава до 5 % элюента Б, 3 мин. – 5 % элюента Б. Поток элюентов 200 мкл/мин.

Масс-спектрометрический анализ проводили на масс-спектрометре Orbitrap Exploris 480 (Thermo Fisher Scientific), имеющем электроспрейный источник ионизации. Масс-спектрометр был настроен на приоритетную детекцию ионов в диапазоне m/z от 67 до 1000 Да при разрешающей способности 60 000. Спектры снимали в режиме детекции положительно заряженных ионов. Время снятия одного спектра 20 мин. Дополнительные МС настройки были следующими: напряжение ионного распыления = $-3,5$ kV; температура капилляра = 320 °C; температура нагревателя пробы = 300 °C; защитный газ = 35; вспомогательный газ = 10 и радиочастотная S-линза – 50.

Для масс-спектрометрических пиков, подлежащих идентификации, устанавливали соответствие конкретным метаболитам из базы данных Human Metabolome Database (<https://www.hmdb.ca>) и Metlin (Scripps Center for Mass Spectrometry, США; <https://metlin.scripps.edu>). Для этого использовали точно измеренную массу химического соединения. Биоинформационный анализ проводили с использованием программного обеспечения Compound Discoverer Software (Thermo Fisher Scientific, США) и анализ биохимических путей с применением KEGG PATHWAY Database.

Статистическая обработка данных

Оценку различий проводили с использованием критерия Манна-Уитни для порогового уровня статистической значимости $p < 0,05$, для учета множественного сравнения использовали поправку Бонферрони. Анализ данных проводился на языке программирования Python с использованием библиотеки SciPy [12].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе проведенного метаболомного профилирования было проанализировано 100 образцов серозной аденокарциномы яичников и 100 образцов условно-нормальных тканей яичников. Было выявлено 750 метаболитов. Для метаболитов, интенсив-

ности которых в масс-спектрах статистически значимо отличались относительно нормальной ткани, были определены P-value и FoldChange (табл. 1).

По полученным данным, метаболом опухолевой ткани пациенток с серозной карциномой яичников существенно отличался от образцов нормальной ткани яичника этих же пациенток. В опухолевой ткани пациенток 10 метаболитов (кинуренин, фенилаланил-валин, лизофосфатидилхолин (18:3), лизофосфатидилхолин (18:2), аланил-лейцин, L-фенилаланин, фосфатидилинозитол (34:1), 5-метокситриптофан, лизофосфатидилхолин (14:0), индолакриловая кислота) имели значительно большую концентрацию по сравнению с условно нормальной тканью, концентрация 10 соединений (миристиновая кислота, деканоилкарнитин, аспартил-глицин, малонилкарнитин, 3-метилксантин, 3-оксодекановая кислота, 2-гидроксимиристиновая кислота, N-ацетилпролин, L-октаноилкарнитин, каприлоил-глицин) наоборот была понижена.

Так обнаружено, что концентрации в опухолевой ткани миристиновой кислоты, 2-гидроксимиристиновой кислоты и 3-оксодекановой кислоты статистически значимо ($p < 0,01$) снижены в 2,6 раза, 4,8 раза и 1,4 раза соответственно по сравнению с нормальной тканью. Уровень деканоилкарнитина, малонилкарнитина и L-октаноилкарнитина в опухолевой ткани был статистически значимо ($p < 0,0001$) ниже в 5,3 раза, 1,5 раза и 6,7 раз соответственно, чем в нормальной ткани. Статистически значимо ($p < 0,00000005$) была увеличена концентрация ряда фосфолипидов в опухолевой ткани у больных раком яичника относительно нормальной ткани яичников: лизофосфатидилхолина (18:3) в 2,1 раза, лизофосфатидилхолина (18:2) в 3,4 раза, фосфатидилинозитол (34:1) в 4,1 раза и лизофосфатидилхолин (14:0) в 1,9 раза. А также были обнаружены статистически значимые ($p < 0,01$) изменения в концентрации некоторых аминокислот и их производных: увеличение концентрации кинуренина в 6,1 раза, фенилаланил-валина в 2,2 раза, аланил-лейцина в 1,6 раза, L-фенилаланина в 1,8 раза, 5-метокситриптофана в 1,6 раза и индолакриловой кислоты в 1,5 раза относительно нормальной ткани, а также снижение концентрации N-ацетилпролина в 1,7 раза, каприлоилглицина в 1,5 раза и аспартил-глицина в 5,0 раз соответственно относительно нормальной ткани яичника. Обнаружено и изменение в содержании производных азотистых оснований в опухолевой ткани яичников – снижение концентрации 3-метилксантина в 2,3 раза ($p < 0,0001$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Методом УВЭЖХ-МС было идентифицировано 750 метаболитов различных классов, при этом в опухолевой ткани концентрация 10 метаболитов была значительно повышена по сравнению с условно-нормальной тканью, а концентрация 10 соединений, наоборот, была понижена.

Жирные кислоты и их производные

В опухолевой ткани концентрации большинства производных жирных кислот – миристино-

вой кислоты, 2-гидроксимиристиновой и 3-оксододекановой кислоты были снижены по сравнению с условно-нормальной тканью. Опухолевые клетки характеризуются глубокой перестройкой метаболизма липидов и жирных кислот. При некоторых типах опухолей утилизация жирных кислот увеличивается, при других подавляется [13, 14].

Миристиновая кислота ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$, FoldChange 0,38, $p = 0,0000241$) – насыщенная жирная кислота с алифатической длинной цепью, присутствует практически во всех живых организмах [15]. Аномальные уровни миристиновой кис-

Таблица 1. Отличие метаболомного профиля опухолевой ткани от нормальной у пациенток с серозной аденокарциномой яичников			
Метаболиты	m/z	Кратность отличий (FoldChange, опухоль/ норма)	P-value
1. Жирные кислоты и их производные			
Миристиновая кислота	231,2	0,38	0,00002410
2-гидроксимиристиновая кислота	267,2	0,21	0,00001000
3-оксододекановая кислота	237,1	0,74	0,01000060
2. Ацилкарнитины			
Деканоилкарнитин	316,2	0,19	0,000000003
Малонилкарнитин	230,1	0,65	0,000100002
L-октаноилкарнитин	288,2	0,15	0,000004011
3. Фосфолипиды			
Лизофосфатидилхолин (18:3)	518,3	2,05	0,000000002
Лизофосфатидилхолин (18:2)	521,3	3,40	0,000000051
Лизофосфатидилхолин (14:0)	468,3	1,89	0,000000003
Фосфатидилинозитол (34:1)	430,8	4,11	0,000000001
4. Аминокислоты и их производные			
Аланил-лейцин	185,1	1,55	0,000900000
Фенилаланил-валин	265,2	2,15	0,000100000
L-фенилаланин	166,1	1,84	0,000000002
Кинуренин	209,1	6,07	0,000001000
Аспартил-глицин	208,1	0,20	0,000012400
5-метокситриптофан	217,1	1,61	0,000004200
Индолакриловая кислота	171,1	1,49	0,010189400
N-ацетилпролин	140,1	0,59	0,000085630
Каприлоилглицин	202,1	0,65	0,010212890
5. Производные азотистых оснований			
3-метилксантин	167,1	0,44	0,000100000

лоты могут увеличить риск возникновения опухолей [16]. Она участвует в реализации нескольких противоопухолевых механизмов, таких как выработка миристолеиновой кислоты, вызывающей апоптоз, и в синтезе церамидов *de novo*. По данным ряда авторов, содержание миристиновой кислоты в биологических жидкостях и тканях обратно связано с риском развития колоректального рака. Но механизмы, лежащие в основе этой взаимосвязи, до конца не изучены [17–20].

2-гидроксимиристиновая кислота ($C_{14}H_{28}O_3$, FoldChange 0,21, $p = 0,00001$) представляет собой жирную кислоту, содержащую алифатическую цепь, несущую гидроксильный заместитель в положении 2, является производной миристиновой кислоты. Физиологическая функция гидроксигирных кислот остается в значительной степени неизвестной. Показано, что они выполняют специфическую роль в передаче сигналов клеткам [21]. 2-Гидроксимиристиновая кислота метаболически активируется в клетках с образованием 2-гидроксимиристоил-КоА, мощного ингибитора миристоил-КоА [22]. В настоящее время основные механизмы, посредством которых 2-гидроксилирование жирных кислот связано с метаболической адаптацией и ростом опухоли, остаются неясными [23].

3-оксодекановая кислота ($C_{12}H_{22}O_3$, FC = 0,74, $p = 0,01000060$) представляет собой жирную кислоту, которая является 3-оксопроизводным декановой кислоты. В организме человека 3-оксодекановая кислота участвует в ряде ферментативных реакций [24]. О кетожирных кислотах часто сообщают как об артефактах окисления жирных кислот, но относительно редко – как о природных жирных кислотах. 3-Кетожирные кислоты, обнаруженные в качестве второстепенных компонентов тканей животных, обычно являются промежуточными продуктами β -окисления.

Для осуществления β -окисления жирных кислот митохондриями непременным условием является наличие карнитина – важного кофактора метаболических процессов. В организме человека насчитывается более 1000 видов ацилкарнитинов, общая функция которых заключается в транспортировке ацильных групп органических кислот и жирных кислот из цитоплазмы в митохондрии, чтобы их можно было расщепить в ходе бета-окисления для получения энергии [25]. Это один из наиболее эффективных путей производства энергии в клетках, поэтому ткани с высоким потреблением энергии, в основном зависят от утилизации жирных кислот [26].

Рак является патологическим состоянием, характеризующимся высоким энергетическим потреблением. Глюкоза и глютамин в качестве энергетических субстратов считаются отличительной чертой опухолевых клеток, а метаболический переключатель, который позволяет использовать их практически в анаэробных условиях, известен как эффект Варбурга [27]. Каноническая интерпретация эффекта Варбурга подразумевает, что клетки обходят митохондриальную дыхательную цепь для синтеза АТФ даже при достаточном снабжении кислородом [28]. Однако, очевидно, что эффект Варбурга необходимо рассматривать в более общем метаболическом контексте, который включает также утилизацию жирных кислот в соответствии с эффективностью этих субстратов с точки зрения выхода АТФ. Метаболическая гибкость является феноменом, наблюдаемым при различных типах рака и в пределах одного и того же типа рака на разных стадиях прогрессирования. Индуцированное карнитином окисление жирных кислот играет критическую роль в производстве НАДН, ФАДН₂, НАДФН и АТФ, что может способствовать развитию опухолей [29].

Ацилкарнитины

Метаболическое перепрограммирование опухолевых клеток регулирует содержание ацилкарнитинов с различной длиной цепи, чтобы создать баланс между производством, потреблением энергии и синтезом метаболических промежуточных продуктов для удовлетворения требований быстрой пролиферации [30]. Ацилкарнитины обладают цитотоксичностью и иммуномодулирующими свойствами, которые могут быть использованы опухолью для роста и выживания *in situ* [31]. Так изменение уровня малонилкарнитина связано с риском развития рака молочной железы.

Малонилкарнитин представляет собой метаболит, который накапливается при специфическом нарушении окисления жирных кислот, вызванном нарушением поступления длинноцепочечных эфиров ацилкарнитина в митохондрии и недостаточностью митохондриальной дыхательной цепи при дефиците комплекса 11 и малонил-КоА-декарбоксилазы [32].

L-октаноилкарнитин представляет собой физиологически активную форму октаноилкарнитина [33], который обнаруживается при дефиците ацил-КоА-дегидрогеназы средней цепи (MCAD). L-октано-

илкарнитин участвует в процессах перекисного окисления липидов (HMDB: HMDB0000791), метаболизме жирных кислот (HMDB: HMDB0000791), митохондриальном бета-окислении короткоцепочечных насыщенных жирных кислот (HMDB: HMDB0000791) и транспорте липидов (HMDB: HMDB0000791). Изменение его концентраций зарегистрировано в крови и фекалиях при колоректальном раке, болезни Крона и язвенном колите [34].

Деканоилкарнитин классифицируется как ацилкарнитин со средней длиной цепи. Изменение концентрации деканоилкарнитина обнаружено при почечно-клеточном раке и раке молочных желез [35].

Изучение флуктуаций в содержании ацилкарнитинов может способствовать лучшему пониманию механизмов онкологических заболеваний и развитию методов их диагностики и лечения.

Фосфолипиды

В нашем исследовании в опухолевой ткани яичников наблюдалось увеличение концентрации лизофосфатидилхолинов и фосфатидилинозитола. Лизофосфолипиды секретируются различными типами клеток, в том числе опухолевыми. Данные химические соединения играют важную роль в развитии, активации и регуляции иммунной системы [36]. Изменения состава и содержания фосфолипидов и лизофосфолипидов ранее было показано при раке предстательной железы и рассматривается в качестве потенциальных биомаркеров [37]. Лизофосфолипиды функционируют как сигнальные молекулы через специфические мембранные рецепторы. Кроме того, некоторые из лизофосфолипидов обладают активностью, способствующей развитию опухолей, и поэтому называются «онколипидами» [38]. Недавние исследования показали, что фосфолипиды являются кандидатами в биомаркеры рака яичников. Было проведено несколько всесторонних проспективных исследований липидов, таких как лизофосфатидилхолины, фосфатидилхолины, церамиды и сфингомиелины, концентрации которых различаются у больных раком яичников по сравнению со здоровыми [39, 10].

Лизофосфатидилхолины, также называемые лизолецитинами, представляют собой класс химических соединений, образующихся из фосфатидилхолинов при помощи фермента фосфолипаза A2. Лизофосфатидилхолины являются наиболее распространенными фосфолипидами в крови и ключевыми липидами при различных патофизио-

логических состояниях, таких как воспаление, активация эндотелия и атерогенез [40]. Помимо других свойств, они действуют как сигнальная молекула, высвобождаемая апоптозными клетками для привлечения фагоцитов, которые затем фагоцитируют апоптотические клетки [41].

Фосфатидилинозитолы – минорные фосфолипиды внутреннего слоя мембран эукариотических клеток, важные компоненты внутриклеточных сигнальных путей. Фосфатидилинозитол является субстратом для множества разнообразных сигнальных молекул-киназ, которые могут присоединить к инозитолу фосфатную группу. Основные биологические функции фосфатидилинозитолов это стабилизация мембран (HMDB: HMDB0009799) и передача молекулярных сигналов (HMDB: HMDB0009799). Фосфатидилинозитолы участвуют в таких важных сигнальных путях и процессах, как метаболизм жирных кислот (HMDB: HMDB0009799), перекисное окисление липидов (HMDB: HMDB0009799), апоптоз, клеточная адгезия [42], миграция и пролиферация клеток [43]. Их содержание повышается в крови (HMDB: HMDB0009799) при ряде онкологических заболеваний, включая рак молочной железы, колоректальный рак и рак желудка [44].

Аминокислоты и их производные

Для повышенных метаболических потребностей опухолевых клеток, поддерживающих высокую пролиферативную активность, необходим обильный запас питательных веществ, таких как аминокислоты [45].

Изменение метаболизма триптофана при раке через кинурениновый путь привлекло широкое внимание как механизм, с помощью которого опухоли могут ускользать от иммунного контроля [45].

Кинуренин (β -(о-аминобензол)- α -аминопропионовая кислота) – промежуточный продукт ферментативного распада триптофана и биосинтеза никотиновой кислоты в организме человека. При ферментативном окислении кинуренин превращается в 3-оксикинуренин. Путь биотрансформации L-триптофана с образованием «кинурениновых» метаболитов играет важнейшую роль в механизмах иммунорегуляции и «негативном» контроле иммунного воспаления [46].

В дополнение к основным путям катаболизма триптофана существуют второстепенные, один из них приводит к индоилакриловой кислоте ($C_{11}H_9NO_2$, индолакрилат), биологическая роль которой у живот-

ных до сих пор неясна [47]. Стимулирование выработки индолакриловой кислоты может способствовать противовоспалительным реакциям и иметь терапевтическое значение [47]. В нашем исследовании уровень индолакриловой кислоты повышен в опухолевой ткани яичников. Продукция индолакриловой кислоты может способствовать развитию противовоспалительных реакций [47]. Было показано, что она избирательно воздействует на клетки рака молочной железы, но не влияет на нетрансформированные первичные фибробласты. В нашем исследовании повышение индолакриловой кислоты сопровождалось ростом содержания кинуренина.

Из L-триптофана посредством 2 ферментов: триптофангидроксилазы-1 и гидроксииндол-O-метилтрансферазы синтезируется 5-метокситриптофан ($C_{12}H_{14}N_2O_3$), который представляет собой эндотелиальный фактор с противовоспалительными свойствами [48]. Он контролирует миграцию и активацию макрофагов, ингибируя NF- κ B [49], а также регулирует эпителиально-мезенхимальный переход и метастазирование [50].

Изменение метаболизма другой ароматической аминокислоты – фенилаланина и его производных также связаны с воспалением и иммунной активацией. Neurauter G. и соавт. показали, что концентрация фенилаланина в сыворотке крови у больных карциномой яичников коррелирует с концентрацией маркеров иммунной активации и развитием оксидативного стресса [51].

Также нами было обнаружено снижение содержания дипептида аспартил-глицина в опухолевой ткани. Это соединение вероятно представляет собой продукт неполного распада белков и пептидов. Известно, что некоторые дипептиды обладают физиологическими или клеточными сигнальными эффектами, хотя большинство из них являются просто короткоживущими промежуточными продуктами на пути к специфическим путям деградации аминокислот. Некоторые дипептиды также рассматриваются в качестве биомаркеров заболеваний [52].

Также снижаются и концентрации *N*-ацетил-L-пролина ($C_7H_{11}NO_3$) и каприлоилглицина. *N*-ацетилпролин представляет собой биологически доступную N-концевую форму протеиногенной альфа-аминокислоты L-пролина. N-концевое ацетилирование белков является широко распространенным и высококонсервативным процессом у эукариот, который участвует в защите и стабильности белков [53]. В ряде исследований показана связь *N*-ацетил-L-пролина с колоректальным раком [54] и метастатической меланомой [55]. Каприлоилглицин является липидной аминокислотой, состоящий из каприловой кислоты и глицина. Ацилглицины обычно являются второстепенными метаболитами жирных кислот [55].

Производные азотистых оснований и стероиды

В нашем исследовании в опухолевой ткани яичников обнаружено снижение концентрации 3-метилксантина. 3-метилксантин ($C_6H_6N_4O_2$) является метильным производным пурина с кетонной группой (3,7-дигидропурин-2,6-дион). Некоторые данные свидетельствуют о том, что метилксантины, обладают противоопухолевым действием [56]: они ингибируют *PI3K/Akt/mTOR* и стимулируют *PTEN*, способствуя апоптозу и аутофагии [57].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В опухолевой ткани яичника обнаружено значительное изменение метаболома, выраженное в аномальных концентрациях жирных кислот и их производных, ацилкарнитинов, аминокислот и их производных, фосфолипидов и производных азотистых оснований. Концентрации этих метаболитов в тканях могут служить диагностическими маркерами рака яичников. Таким образом, метаболомное профилирование тканей позволило как выявить потенциальные маркеры заболевания, так и лучше понять молекулярные механизмы изменений, лежащих в основе развития данного заболевания.

Список источников

1. Reid BM, Permuth JB, Sellers TA. Epidemiology of ovarian cancer: a review. *Cancer Biol Med*. 2017 Feb;14(1):9–32. <https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2016.0084>
2. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, Г. В. Петровой. М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2019, 250 с.

3. Цандекова М. Р., Порханова Н. В., Кутилин Д. С. Молекулярная характеристика серозной аденокарциномы яичника: значение для диагностики и лечения. *Современные проблемы науки и образования*. 2020;(1):55. <https://doi.org/10.17513/spno.29428>, EDN: LTMXTL
4. Meinhold-Heerlein I, Fotopoulou C, Harter P, Kurzeder C, Mustea A, Wimberger P, et al. The new WHO classification of ovarian, fallopian tube, and primary peritoneal cancer and its clinical implications. *Arch Gynecol Obstet*. 2016 Apr;293(4):695–700. <https://doi.org/10.1007/s00404-016-4035-8>
5. Rooth C. Ovarian cancer: risk factors, treatment and management. *Br J Nurs*. 2013 Sep 12;22(17):S23–30. <https://doi.org/10.12968/bjon.2013.22.Sup17.S23>
6. Ahmed-Salim Y, Galazis N, Bracewell-Milnes T, Phelps DL, Jones BP, Chan M, et al. The application of metabolomics in ovarian cancer management: a systematic review. *Int J Gynecol Cancer*. 2021 May;31(5):754–774. <https://doi.org/10.1136/ijgc-2020-001862>
7. Plewa S, Horała A, Dereziński P, Nowak-Markwitz E, Matysiak J, Kokot ZJ. Wide spectrum targeted metabolomics identifies potential ovarian cancer biomarkers. *Life Sci*. 2019 Apr 1;222:235–244. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.03.004>
8. Swiatly A, Plewa S, Matysiak J, Kokot ZJ. Mass spectrometry-based proteomics techniques and their application in ovarian cancer research. *J Ovarian Res*. 2018 Oct 1;11(1):88. <https://doi.org/10.1186/s13048-018-0460-6>
9. Veenstra TD. Metabolomics: the final frontier? *Genome Med*. 2012 Apr 30;4(4):40. <https://doi.org/10.1186/gm339>
10. Гуськова О. Н., Аллилуев И. А., Вереникина Е. В., Половодова В. В., Рогозин М. А., Мягкова Т. Ю. и др. Изменение концентрации метаболитов в моче как малоинвазивный маркер серозной аденокарциномы яичников. *Российский биотерапевтический журнал*. 2023;22(3):43–50. <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2023-22-3-43-50>, EDN: KRLBXC
11. Гуськова О. Н., Аллилуев И. А., Вереникина Е. В., Меньшенина А. П., Черкасова А. А., Арджа А. Ю. и др. Особенности метаболома плазмы крови пациентов с серозной карциномой яичников. *Современные проблемы науки и образования*. 2023;(3):89. <https://doi.org/10.17513/spno.32678>, EDN: HJTHUD
12. Jones E., Oliphant E., Peterson P. SciPy: Open source scientific tools for python, 2001.
13. Koundouros N, Poulogiannis G. Reprogramming of fatty acid metabolism in cancer. *Br J Cancer*. 2020 Jan;122(1):4–22. <https://doi.org/10.1038/s41416-019-0650-z>
14. Zhao S, Cheng L, Shi Y, Li J, Yun Q, Yang H. MIEF2 reprograms lipid metabolism to drive progression of ovarian cancer through ROS/AKT/mTOR signaling pathway. *Cell Death Dis*. 2021 Jan 5;12(1):18. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-03336-6>
15. Zazula R, Moravec M, Pehal F, Nejtek T, Protuš M, Müller M. Myristic Acid Serum Levels and Their Significance for Diagnosis of Systemic Inflammatory Response, Sepsis, and Bacteraemia. *J Pers Med*. 2021 Apr 16;11(4):306. <https://doi.org/10.3390/jpm11040306>
16. Matta M, Deubler E, Chajes V, Vozar B, Gunter MJ, Murphy N, et al. Circulating plasma phospholipid fatty acid levels and breast cancer risk in the Cancer Prevention Study-II Nutrition Cohort. *Int J Cancer*. 2022 Dec 15;151(12):2082–2094. <https://doi.org/10.1002/ijc.34216>
17. Aglago EK, Murphy N, Huybrechts I, Nicolas G, Casagrande C, Fedirko V, et al. Dietary intake and plasma phospholipid concentrations of saturated, monounsaturated and trans fatty acids and colorectal cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition cohort. *Int J Cancer*. 2021 Apr 28;149(4):865–882. <https://doi.org/10.1002/ijc.33615>
18. Brown DG, Rao S, Weir TL, O'Malia J, Bazan M, Brown RJ, et al. Metabolomics and metabolic pathway networks from human colorectal cancers, adjacent mucosa, and stool. *Cancer Metab*. 2016;4:11. <https://doi.org/10.1186/s40170-016-0151-y>
19. Sinha R, Ahn J, Sampson JN, Shi J, Yu G, Xiong X, et al. Fecal Microbiota, Fecal Metabolome, and Colorectal Cancer Interrelations. *PLoS One*. 2016;11(3):e0152126. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152126>
20. Wang X, Wang J, Rao B, Deng L. Gut flora profiling and fecal metabolite composition of colorectal cancer patients and healthy individuals. *Exp Ther Med*. 2022 Apr;23(4):250. <https://doi.org/10.3892/etm.2022.11175>
21. Jenske R, Vetter W. Enantioselective analysis of 2- and 3-hydroxy fatty acids in food samples. *J Agric Food Chem*. 2008 Dec 24;56(24):11578–11583. <https://doi.org/10.1021/jf802772a>
22. Lemay AM, Courtemanche O, Couttas TA, Jamsari G, Gagné A, Bossé Y, et al. High FA2H and UGT8 transcript levels predict hydroxylated hexosylceramide accumulation in lung adenocarcinoma. *J Lipid Res*. 2019 Oct;60(10):1776–1786. <https://doi.org/10.1194/jlr.M093955>
23. Sun L, Yang X, Huang X, Yao Y, Wei X, Yang S, et al. 2-Hydroxylation of Fatty Acids Represses Colorectal Tumorigenesis and Metastasis via the YAP Transcriptional Axis. *Cancer Res*. 2021 Jan 15;81(2):289–302. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-20-1517>

24. Batsika CS, Mantzourani C, Gkikas D, Kokotou MG, Mountanea OG, Kokotos CG, et al. Saturated Oxo Fatty Acids (SOFAs): A Previously Unrecognized Class of Endogenous Bioactive Lipids Exhibiting a Cell Growth Inhibitory Activity. *J Med Chem*. 2021 May 13;64(9):5654–5666. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c02058>
25. McCann MR, George De la Rosa MV, Rosania GR, Stringer KA. L-Carnitine and Acylcarnitines: Mitochondrial Biomarkers for Precision Medicine. *Metabolites*. 2021 Jan 14;11(1):51. <https://doi.org/10.3390/metabo11010051>
26. Console L, Scalise M, Mazza T, Pochini L, Galluccio M, Giangregorio N, et al. Carnitine Traffic in Cells. Link With Cancer. *Front Cell Dev Biol*. 2020;8:583850. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.583850>
27. Warburg O, Wind F, Negelein E. The metabolism of tumors in the body. *J Gen Physiol*. 1927 Mar 7;8(6):519–530. <https://doi.org/10.1085/jgp.8.6.519>
28. Ganapathy V, Thangaraju M, Prasad PD. Nutrient transporters in cancer: relevance to Warburg hypothesis and beyond. *Pharmacol Ther*. 2009 Jan;121(1):29–40. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2008.09.005>
29. Zhang J, Wu G, Zhu H, Yang F, Yang S, Vuong AM, et al. Circulating Carnitine Levels and Breast Cancer: A Matched Retrospective Case-Control Study. *Front Oncol*. 2022;12:891619. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.891619>
30. Wang Y, Chen Y, Guan L, Zhang H, Huang Y, Johnson CH, et al. Carnitine palmitoyltransferase 1C regulates cancer cell senescence through mitochondria-associated metabolic reprogramming. *Cell Death Differ*. 2018 Mar;25(4):735–748. <https://doi.org/10.1038/s41418-017-0013-3>
31. Ganti S, Taylor SL, Kim K, Hoppel CL, Guo L, Yang J, et al. Urinary acylcarnitines are altered in human kidney cancer. *Int J Cancer*. 2012 Jun 15;130(12):2791–2800. <https://doi.org/10.1002/ijc.26274>
32. Santer R, Fingerhut R, Lässker U, Wightman PJ, Fitzpatrick DR, Olgemöller B, et al. Tandem mass spectrometric determination of malonylcarnitine: diagnosis and neonatal screening of malonyl-CoA decarboxylase deficiency. *Clin Chem*. 2003 Apr;49(4):660–662. <https://doi.org/10.1373/49.4.660>
33. Huang Z, Lin L, Gao Y, Chen Y, Yan X, Xing J, et al. Bladder cancer determination via two urinary metabolites: a biomarker pattern approach. *Mol Cell Proteomics*. 2011 Oct;10(10):M111.007922. <https://doi.org/10.1074/mcp.M111.007922>
34. Chace DH, DiPerna JC, Adam BW, Hannon WH. Errors caused by the use of D,L-octanoylcarnitine for blood-spot calibrators. *Clin Chem*. 2001 Apr;47(4):758–3869.
35. Chang W, Fa H, Xiao D, Wang J. Targeting phosphatidylserine for Cancer therapy: prospects and challenges. *Theranostics*. 2020;10(20):9214–9229. <https://doi.org/10.7150/thno.45125>
36. Rolin J, Maghazachi AA. Effects of lysophospholipids on tumor microenvironment. *Cancer Microenviron*. 2011 Dec;4(3):393–403. <https://doi.org/10.1007/s12307-011-0088-1>
37. Li X, Nakayama K, Goto T, Kimura H, Akamatsu S, Hayashi Y, et al. High level of phosphatidylcholines/lysophosphatidylcholine ratio in urine is associated with prostate cancer. *Cancer Sci*. 2021 Oct;112(10):4292–4302. <https://doi.org/10.1111/cas.15093>
38. Min HK, Lim S, Chung BC, Moon MH. Shotgun lipidomics for candidate biomarkers of urinary phospholipids in prostate cancer. *Anal Bioanal Chem*. 2011 Jan;399(2):823–830. <https://doi.org/10.1007/s00216-010-4290-7>
39. Zeleznik OA, Clish CB, Kraft P, Avila-Pacheco J, Eliassen AH, Tworoger SS. Circulating Lysophosphatidylcholines, Phosphatidylcholines, Ceramides, and Sphingomyelins and Ovarian Cancer Risk: A 23-Year Prospective Study. *J Natl Cancer Inst*. 2020 Jun 1;112(6):628–636. <https://doi.org/10.1093/jnci/djz195>
40. Li X, Wang L, Fang P, Sun Y, Jiang X, Wang H, et al. Lysophospholipids induce innate immune transdifferentiation of endothelial cells, resulting in prolonged endothelial activation. *J Biol Chem*. 2018 Jul 13;293(28):11033–11045. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.002752>
41. Kaynak A, Davis HW, Kogan AB, Lee JH, Narmoneva DA, Qi X. Phosphatidylserine: The Unique Dual-Role Biomarker for Cancer Imaging and Therapy. *Cancers (Basel)*. 2022 May 21;14(10):2536. <https://doi.org/10.3390/cancers14102536>
42. Wood MN, Ishiyama N, Singaram I, Chung CM, Flozak AS, Yemelyanov A, et al. α -Catenin homodimers are recruited to phosphoinositide-activated membranes to promote adhesion. *J Cell Biol*. 2017 Nov 6;216(11):3767–3783. <https://doi.org/10.1083/jcb.201612006>
43. Ramos AR, Elong Edimo W, Erneux C. Phosphoinositide 5-phosphatase activities control cell motility in glioblastoma: Two phosphoinositides PI(4,5)P₂ and PI(3,4)P₂ are involved. *Adv Biol Regul*. 2018 Jan;67:40–48. <https://doi.org/10.1016/j.jbior.2017.09.001>
44. Sikalidis AK. Amino acids and immune response: a role for cysteine, glutamine, phenylalanine, tryptophan and arginine in T-cell function and cancer? *Pathol Oncol Res*. 2015 Jan;21(1):9–17. <https://doi.org/10.1007/s12253-014-9860-0>

45. Badawy AAB. Kynurenine Pathway of Tryptophan Metabolism: Regulatory and Functional Aspects. *Int J Tryptophan Res.* 2017;10:1178646917691938. <https://doi.org/10.1177/1178646917691938>
46. Wlodarska M, Luo C, Kolde R, d’Hennezel E, Annand JW, Heim CE, et al. Indoleacrylic Acid Produced by Commensal *Pep-*to*streptococcus* Species Suppresses Inflammation. *Cell Host Microbe.* 2017 Jul 12;22(1):25–37. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.06.007>
47. Tanaka M, Tóth F, Polyák H, Szabó Á, Mándi Y, Vécsei L. Immune Influencers in Action: Metabolites and Enzymes of the Tryptophan-Kynurenine Metabolic Pathway. *Biomedicines.* 2021 Jun 25;9(7):734. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9070734>
48. Kanova M, Kohout P. Tryptophan: A Unique Role in the Critically Ill. *Int J Mol Sci.* 2021 Oct 28;22(21):11714. <https://doi.org/10.3390/ijms222111714>
49. Cheng HH, Kuo CC, Yan JL, Chen HL, Lin WC, Wang KH, et al. Control of cyclooxygenase-2 expression and tumorigenesis by endogenous 5-methoxytryptophan. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012 Aug 14;109(33):13231–13236. <https://doi.org/10.1073/pnas.1209919109>
50. Neurauter G, Grahmann AV, Klieber M, Zeimet A, Ledochowski M, Sperner-Unterwieser B, et al. Serum phenylalanine concentrations in patients with ovarian carcinoma correlate with concentrations of immune activation markers and of isoprostan-8. *Cancer Lett.* 2008 Dec 8;272(1):141–147. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2008.07.002>
51. Ozawa H, Hirayama A, Shoji F, Maruyama M, Suzuki K, Yamanaka-Okumura H, et al. Comprehensive Dipeptide Analysis Revealed Cancer-Specific Profile in the Liver of Patients with Hepatocellular Carcinoma and Hepatitis. *Metabolites.* 2020 Nov 1;10(11):442. <https://doi.org/10.3390/metabo10110442>
52. Sass JO, Mohr V, Olbrich H, Engelke U, Horvath J, Fliegau M, et al. Mutations in ACY1, the gene encoding aminoacylase 1, cause a novel inborn error of metabolism. *Am J Hum Genet.* 2006 Mar;78(3):401–409. <https://doi.org/10.1086/500563>
53. Lin Y, Ma C, Liu C, Wang Z, Yang J, Liu X, et al. NMR-based fecal metabolomics fingerprinting as predictors of earlier diagnosis in patients with colorectal cancer. *Oncotarget.* 2016 May 17;7(20):29454–29464. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.8762>
54. Frankel AE, Coughlin LA, Kim J, Froehlich TW, Xie Y, Frenkel EP, et al. Metagenomic Shotgun Sequencing and Unbiased Metabolomic Profiling Identify Specific Human Gut Microbiota and Metabolites Associated with Immune Checkpoint Therapy Efficacy in Melanoma Patients. *Neoplasia.* 2017 Oct;19(10):848–855. <https://doi.org/10.1016/j.neo.2017.08.004>
55. Shojaei-Zarghani S, Yari Khosroushahi A, Rafrat M, Asghari-Jafarabadi M, Azami-Aghdash S. Dietary natural methylxanthines and colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Food Funct.* 2020 Dec 1;11(12):10290–10305. <https://doi.org/10.1039/d0fo02518f>
56. Liu H, Song J, Zhou Y, Cao L, Gong Y, Wei Y, et al. Methylxanthine derivatives promote autophagy in gastric cancer cells targeting PTEN. *Anticancer Drugs.* 2019 Apr;30(4):347–355. <https://doi.org/10.1097/CAD.0000000000000724>

Информация об авторах:

Филиппов Федор Евгеньевич – врач онколог отделения онкогинекологии, ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1» Министерства здравоохранения Краснодарского края, г. Краснодар, Российская Федерация

Кутилин Денис Сергеевич  – к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8942-3733>, SPIN: 8382-4460, AuthorID: 794680, Scopus Author ID: 55328886800

Максимов Алексей Юрьевич – д.м.н., профессор, заместитель генерального директора, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9471-3903>, SPIN: 7322-5589, AuthorID: 710705, Scopus Author ID: 56579049500

Порханова Наталья Владимировна – д.м.н., доцент кафедры онкологии, врач онколог, ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1» Министерства здравоохранения Краснодарского края, г. Краснодар, Российская Федерация
SPIN: 2611-4840, AuthorID: 589928

Вклад авторов:

Филиппов Ф. Е. – проведение эксперимента, написание рукописи;

Кутилин Д. С. – концепция и дизайн исследования, проведение эксперимента, биоинформационный анализ, написание рукописи;

Максимов А. Ю. – редактирование рукописи;

Порханова Н. В. – статистическая обработка данных.

Современные хирургические стратегии лечения метастатического колоректального рака (обзор литературы)

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

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

✉ snv-rnioi@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Метастатическое поражение составляет около 50–60 % всех случаев колоректального рака (КРР). В настоящее время прогноз в отношении метастатического КРР значительно улучшился в связи с появлением эффективной лекарственной терапии и расширением возможностей хирургического лечения. В связи с этим особый интерес представляет изучение современных направлений лечения метастатического КРР.

В данном исследовании был проведен анализ данных литературы (использовались базы данных PubMed, Scopus, eLIBRARY) и собственных результатов лечения больных метастатическим колоректальным раком в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. В настоящее время при планировании терапии пациентов с метастатическим КРР следует учитывать многие факторы: характеристики самой опухоли (биология и локализация опухоли, tumour burden, мутационный статус RAS, BRAF), пациента (возраст, performance status, функциональное состояние органов и систем, коморбидность, отношение пациента к различным методам лечения, ожидания и предпочтения) и самого лечения (токсичность, гибкость программы лечения, социально-экономические факторы, качество жизни). При резектабельном процессе хирургическое лечение с адъювантной или периоперационной химиотерапией, а при потенциально резектабельных метастазах в печень, при массивной распространенности, неблагоприятном прогнозе – проводить максимально активную лекарственную терапию с учетом мутационного статуса опухоли с целью перевода процесса в резектабельный. При распространенном КРР последовательно проводят линии лекарственной терапии, выбор которой основывается на целях терапии, виде и времени первичной терапии, мутационном профиле опухоли, токсичности препаратов.

Пациенты с метастатическим поражением печени и/или легких должны рассматриваться через призму оперативного лечения, поскольку именно хирургическое вмешательство способно значительно улучшить результаты лечения пациентов. Поэтому пациенты с потенциально резектабельными метастазами должны получать максимально эффективное лечение и оперироваться, как только процесс станет резектабельным. При этом современная химиотерапия и таргетная терапия являются неотъемлемой частью лечения больных метастатическим КРР.

Ключевые слова: обзор, метастатический колоректальный рак, резекция печени, химиотерапия, таргетная терапия

Для цитирования: Кит О. И., Геворкян Ю. А., Солдаткина Н. В., Колесников В. Е., Бондаренко О. К., Дашков А. В. Современные хирургические стратегии лечения метастатического колоректального рака (обзор литературы). Южно-Российский онкологический журнал. 2024; 5(3):102-110. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-3-9>, <https://elibrary.ru/lxyray>

Для корреспонденции: 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

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

E-mail: snv-rnioi@yandex.ru

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

SPIN: 8392-6679, AuthorID: 440046, Scopus Author ID: 23499757500

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 принятию в журнале процедуру рецензирования. Об иных конфликтах интересов авторы не заявляли

Статья поступила в редакцию 06.06.2023; одобрена после рецензирования 01.06.2024; принята к публикации 19.06.2024

© Кит О. И., Геворкян Ю. А., Солдаткина Н. В., Колесников В. Е., Бондаренко О. К., Дашков А. В., 2024

Modern strategy of metastatic colorectal cancer treatment (literature review)

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

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

✉ snv-rnioi@yandex.ru

ABSTRACT

Metastatic lesions account for about 50–60 % of all cases of colorectal cancer (CRC). Currently, the prognosis for metastatic CRC has significantly improved due to the advent of effective drug therapy and the expansion of surgical treatment options. In this regard, the study of modern directions of treatment of metastatic CRC is of particular interest.

In this study, both literature data and obtained treatment results of patients with metastatic colorectal cancer have been analyzed (PubMed, Scopus, eLibrary databases were used) at the National Medical Research Centre for Oncology.

Currently, many factors should be taken into account when planning therapy for patients with metastatic CRC: the characteristics of the tumor itself (biology and localization of the tumor, tumor burden, RAS, BRAF mutational status), the patient (age, performance status, functional state of organs and systems, comorbidity, patient attitude, expectations and preferences) and the treatment itself (toxicity, flexibility of the treatment program, socio-economic factors, quality of life). With a resectable process, surgical treatment with adjuvant or perioperative chemotherapy, and with potentially resectable liver metastases, with massive prevalence, unfavorable prognosis – to carry out the most active drug therapy taking into account the mutational status of the tumor in order to transfer the process to a resectable one. In case of widespread colorectal cancer, drug therapy lines are consistently carried out, the selection of which is based on the goals of therapy, the type and time of primary therapy, the mutation profile of the tumor, and the toxicity of drugs.

Patients with metastatic liver and/or lung lesions should be considered through the prism of surgical treatment, since it is surgical intervention that can significantly improve the results of treatment of patients. Therefore, patients with potentially resectable metastases should receive the most effective treatment and be operated on as soon as the process becomes resectable. At the same time, modern chemotherapy and targeted therapy are an integral part of the treatment of patients with metastatic colorectal cancer.

Keywords: review, metastatic colorectal cancer, liver resection, chemotherapy, targeted therapy

For citation: Kit O. I., Gevorkyan Yu. A., Soldatkina N. V., Kolesnikov V. E., Bondarenko O. K., Dashkov A. V. Modern strategy of metastatic colorectal cancer treatment (literature review). South Russian Journal of Cancer. 2024; 5(3): 102-110. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-3-9>, <https://elibrary.ru/lxyray>

For correspondence: Natalya V. Soldatkina – Dr. Sci. (Med.), MD, leading researcher of the Department of General Oncology, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation
Address: 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

E-mail: snv-rnioi@yandex.ru

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

SPIN: 8392-6679, AuthorID: 440046, Scopus Author ID: 23499757500

Funding: this work was not funded

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

The article was submitted 06.06.2023; approved after reviewing 01.06.2024; accepted for publication 19.06.2024

ВВЕДЕНИЕ

Колоректальный рак (КРР) является третьим по распространенности видом злокачественного новообразования во всем мире и второй по значимости причиной смерти от рака [1, 2]. В России заболеваемость КРР на 2022 г. составила 124 на 100 тыс. населения [3]. Метастатическое поражение наблюдается в 50–60 % всех случаев КРР, при этом метастазы встречаются у 20–50 %, а на синхронные метастазы приходится 15–30 % случаев, а также существует взаимосвязь последних с худшим прогнозом [4, 5]. Наиболее частой локализацией метастазов являются печень, затем легкие, брюшина и отдаленные лимфатические узлы.

При этом наиболее часто наблюдаются метастазы, возникающие после лечения (40 %), на синхронные метастазы приходится 25 % случаев и ассоциация с худшим прогнозом. У 30 % пациентов метастатическое поражение ограничено только печенью с первично резектабельным процессом у 1/3 этих пациентов. У 70 % пациентов с метастатическим КРР поражение печени является первично нерезектабельным или имеются экстрапеченочные метастазы [6, 7]. Эти данные свидетельствуют о том, что основная часть пациентов КРР рано или поздно будет иметь отдаленные метастазы, и, в основном, это будут метастазы в печень.

Тем не менее, в настоящее время ситуация не является столь трагичной, поскольку прогноз в отношении метастатического КРР значительно улучшился в связи появлением эффективной лекарственной терапии и расширением возможностей хирургического лечения [8, 9].

Цель исследования: изучение современных направлений лечения метастатического КРР.

Лекарственная терапия метастатического колоректального рака

Выбору лекарственной терапии при метастатическом КРР посвящено много исследований. Существуют современные схемы химиотерапии и иммунотерапии (таргетные препараты, ингибиторы контрольных иммунных точек), а также методы локального воздействия (радиочастотная термоабляция, химиоэмболизация).

Отдаленные результаты применения схем FOLFOX и FOLFIRI оказались сопоставимы, но выявлены преимущества схемы FOLFOX в 1 линии по частоте резекций печени [10]. Ретроспективное исследова-

ние PRIME, которое проводилось в Англии среди 512 пациентов, показало, что добавление к схемам химиотерапии ингибиторов EGFR на 60 % увеличивает частоту R0 резекций печени у больных с нерезектабельными метастазами, и эти пациенты могут быть излечены [11]. Этот вывод был подтвержден и метаанализом, проведенным F. Petrelli и соавт. [12]. Исследование FIRE-3, проводившееся среди 353 пациентов, сравнивало применение разных схем терапии при метастатическом КРР и установило, что наилучший ответ достигался в группе пациентов, получавших цетуксимаб и FOLFIRI через 3,5 месяца лечения [13]. Проведенный метаанализ также подтвердил, что для больных метастатическим КРР с диким типом RAS лучшей стратегией лечения в 1 линии терапии является химиотерапия + цетуксимаб [14]. При диком типе RAS/BRAF и левосторонней локализации первичной опухоли следует использовать антиEGFR, при правосторонней – бевацизумаб [15]. Достижение резектабельности метастазов в печени повышает 5-летнюю выживаемость с 9 до 42 % [16].

Хирургическая тактика при метастатическом поражении печени колоректальным раком

Необходимость резекции печени при метастазах КРР в настоящее время не вызывает сомнений и была доказана данными LiverMetSurvey International Registry, согласно которым из 23 тыс. пациентов 5-летняя выживаемость при наличии резекции печени составила 42 %, без резекции – 9 %. В обзоре P. C. Simmonds и соавт. [17] на основании анализа 30 исследований было установлено, что 5-летняя выживаемость больных КРР с метастазами в печень при резекции печени R0/R1 составила 30–32 %, при резекции R2 – 7 %, без резекции печени – 0 %. Метаанализ, проведенный G. P. Kanas и соавт. [18] показал, что 5-летняя выживаемость пациентов метастатическим КРР, подвергшихся резекции печени, составила 38 %. Следовательно, хирургия должна быть целью для основного числа данных пациентов [6].

Критерии резектабельности метастазов в печень были определены R. Adam и разделены на технические и онкологические [19]. Техническими абсолютными критериями являются невозможность R0 резекции с менее или 30 % остающейся тканью печени, а также наличие нерезектабельных экстрапеченочных метастазов. Техническими относительными критериями являются возможность R0 резекции только с применением других процедур,

а также R1 резекции. Онкологическими критериями являются нерезектабельные экстрапеченочные метастазы, 5 и более метастазов в печени, опухоль левая прогрессия.

Прогностически неблагоприятными факторами после резекции печени по поводу метастазов КРР являются: R1 резекция, экстрапеченочные метастазы, более 1 метастаза, размер более 5 см, РЭА выше 200 нг/мл, метастазы в лимфоузлах первичной опухоли, бессобытийный интервал менее 12 мес., билатеральное поражение печени [16, 19], мутация BRAF [20].

При выборе тактики лечения исходно резектабельных метастазов в печени учитываются онкологические и хирургические критерии. При отсутствии хирургических сложностей и благоприятных онкологических прогностических факторах рекомендуется хирургическое лечение без предоперационной химиотерапии (возможна адъювантная терапия). При неблагоприятных онкологических факторах необходима пред- или периоперационная химиотерапия. При хирургических сложностях вне зависимости от онкологических факторов рекомендуется системная химиотерапия [21].

R. Adam предлагает определять тактику лечения КРР с метастазами в печень в зависимости от наличия симптомов первичной опухоли: при асимптомной опухоли с резектабельными метастазами возможна одномоментная резекция печени и первичного очага, однако если имеются факторы риска, то сначала проводится химиотерапия, затем – резекция печени, а только затем выполняют резекцию первичного очага; при симптомной опухоли с резектабельными метастазами выполняется резекция первичного очага, затем химиотерапия с последующей резекцией печени. При асимптомной опухоли с нерезектабельными метастазами рекомендуется проведение химиотерапии с последующей поэтапной резекцией печени и первичного очага при переводе процесса в резектабельный. При симптомной опухоли с нерезектабельными метастазами выполняется резекция первичного очага, химиотерапия с последующей резекцией печени при переводе процесса в резектабельный [7].

F. Aigner и соавт. вносят свои корректировки в схему лечения метастатического КРР: при асимптомном резектабельном процессе с наличием факторов риска после неoadъювантной химиотерапии следует выполнять не двухэтапные, а симулированные оперативные вмешательства [22].

Взгляды онкологов в настоящее время привлекает группа асимптомных опухолей с условно резектабельными метастазами в печень, которой рекомендуют проведение наиболее активной неoadъювантной химиотерапии с максимальной частотой объективного ответа (дуплеты, триплеты) с применением таргетных препаратов (в зависимости от статуса RAS) с оценкой эффекта каждые два месяца [11, 23].

При этом пациентам с условно резектабельными метастазами в печень, которым проводится лекарственная терапия, оперативное вмешательство необходимо выполнять сразу при достижении резектабельности, не дожидаясь полного ответа. Эта позиция обусловлена несколькими факторами. Во-первых, 83 % исчезнувших на фоне химиотерапии метастазов будут являться причиной прогрессирования заболевания, во-вторых, существует также опасность гепатотоксичности [18, 22], для уменьшения развития которой рекомендуется ограничить предоперационную терапию 2–3 месяцами [24].

Кроме того, от числа проведенных курсов терапии напрямую зависит и частота послеоперационных осложнений: 13,6 % – без химиотерапии, 19 % – после 5 курсов терапии, 45,4 % – после 6–9 курсов терапии, 61,5 % – после 10 и более курсов терапии [25, 26]. При этом раннее уменьшение опухоли ($\geq 20\%$ или $\leq 30\%$) на 6–8 неделях терапии является индикатором чувствительности к лечению и ассоциируется с высокой частотой резекций печени и увеличением общей выживаемости пациентов [11, 27].

Объем оперативного вмешательства на печени по поводу метастазов колоректального рака

Вопрос об адекватном объеме оперативного вмешательства на печени по поводу метастазов КРР является предметом дискуссий. Здесь возможны варианты анатомических и атипичных резекций. Ранее преимущество отдавалось обширным резекциям печени с большим отступом от края метастаза в связи с лучшими результатами обширных вмешательств. Однако наступившая эра высокоэффективной лекарственной терапии позволила уравнивать выживаемость пациентов при анатомических и неанатомических резекциях печени по поводу метастазов КРР [28].

В 2019 г. опубликован метаанализ 18 исследований, включающий 7081 пациента, сравнивающий паренхимосохраняющие и обширные резекции

печени [29]. Оказалось, что общая и безрецидивная выживаемость в этих группах пациентов была сопоставима, что позволило авторам прийти к выводу, что паренхимосохраняющая хирургия является адекватным методом лечения метастатического КРР. С теми же результатами сравнивались паренхимосохраняющие и анатомические резекции печени по поводу метастазов в 12 исследованиях, включающих 2505 пациентов [30].

В настоящее время изменилось отношение и к негативному краю резекции печени. Так, N. Kokudo [31] обнаружил микрометастазы КРР в паренхиме печени только у 2 % больных в пределах 5 мм и более от макроскопической границы опухоли. Дальнейшие исследования показали, что не существует достоверной разницы в выживаемости пациентов при расстоянии от линии резекции меньше и больше 1 см. Даже клиренс 1 мм не увеличил время до появления рецидива метастаза в печени, а 5-летняя общая выживаемость при этом составила 33 % [31]. Кроме того, при современной химиотерапии даже резекция R1 не имеет прогностического значения для выживаемости больных [32].

Паренхимосохраняющие резекции печени открыли и широкие возможности для успешного применения лапароскопической техники при метастазах КРР [33–35].

Повторные резекции печени при метастатическом колоректальном раке

Смысл сохранения паренхимы печени заключается не только в возможности проведения химиотерапии, но и повторных резекций печени при возникновении новых метастазов. Целесообразность повторных резекций печени была доказана в исследованиях, в частности, в работе T. Schmidt [36], в которой при анализе данных 578 больных установлено, что без повторных резекций печени при рецидиве метастатического поражения 5-летняя общая выживаемость составила 36,7 %, при повторных резекциях печени – 56,6 %, при резекциях в третий раз – 53,2 %.

При этом установленные прогностические факторы при повторных резекциях не применимы, имеют значение только рТ-стадия первичной опухоли и метастатическое поражение [37]. Метаанализ 7200 пациентов из 27 исследований показал, что от повторных операций получают преимущество пациенты с большим безрецидивным периодом при солитарном, небольшом, унилобарном пораже-

нии и отсутствии экстрапеченочных метастазов [36]. Следовательно, пациенты для повторных резекций печени должны быть тщательно отобраны.

В случаях невозможности резекции или РЧТА метастатического поражения печени возможно применение других методов локального воздействия, таких как регионарные внутриаартериальные химиоинфузии, эмболизационная терапия, которые позволяют достичь медианы общей выживаемости 45,6 месяцев по сравнению с 40,5 месяцами при проведении только системной терапии [38].

Метастатическое поражение легких и яичников при колоректальном раке

Метастатическое поражение легких – вторая излюбленная локализация отдаленного метастазирования КРР. Важность активной хирургической тактики при этом была продемонстрирована в исследовании M. W. Onaitis и соавт. [39], в котором торакальное вмешательство позволило достичь 28 % 3-летней безрецидивной и 78 % общей выживаемости при анализе данных 378 пациентов. Факторами негативного прогноза при метастазах в легкие являются: короткий безрецидивный интервал, метастатическое поражение лимфоузлов, наличие более 1 метастатического очага в легких, высокий уровень РЭА, резекция легкого R1, большие размеры метастазов, метастазы в печени в анамнезе [39, 40].

Клинические рекомендации для лечения метастатического поражения печени при КРР применимы и для метастатического поражения легких [39]. Возможны комбинированные и последовательные резекции печени и легких с обнадеживающими результатами у отобранной группы пациентов с солитарным метастатическим поражением [41].

Метастатическое поражение яичников возникает нередко у женщин, при этом чаще они выявляются с поражением других органов, одиночное поражение возникает только у 24 % женщин. Прогноз при метастазах в яичники хуже, чем в печени, а медиана выживаемости составляет лишь 23 месяца [42].

Выбор тактики лечения метастатического колоректального рака

Консенсус ESMO-ASIA 2019 г. по лечению метастатического КРР подытожил современные представления и рекомендовал при резектабельном процессе хирургическое лечение с адъювантной или периоперационной химиотерапией, а при по-

тенциально резектабельных метастазах в печень, при массивной распространенности, неблагоприятном прогнозе – проводить максимально активную лекарственную терапию с учетом мутационного статуса опухоли с целью перевода процесса в резектабельный [21]. При нерезектабельном КРР последовательно проводят линии лекарственной терапии, выбор которой основывается на целях, виде и времени первичной терапии, мутационном профиле опухоли, токсичности препаратов. В исследованиях обнаружена корреляция между увеличением медианы выживаемости метастатического КРР и применением всех трех основных цитотоксических агентов (фторурацил/лейковарин, оксалиплатин, иринотекан) на протяжении терапии [43].

При этом в настоящее время при планировании терапии пациентов с метастатическим КРР следует учитывать многие факторы. Это и характеристики самой опухоли (биология и локализация опухоли, tumour burden, мутации RAS, BRAF), пациента (возраст, функциональное состояние органов и систем, коморбидность, отношение пациента, ожидания

и предпочтения) и лечения (токсичность, гибкость программы лечения, социоэкономические факторы, качество жизни) [21]. То есть необходим баланс между рисками и пользой терапии метастатического КРР, и этому вопросу было уделено большое внимание на ASCO 2020.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, больные КРР с метастатическим поражением печени и/или легких должны рассматриваться через призму оперативного лечения, поскольку именно хирургическое вмешательство способно значительно улучшить результаты лечения пациентов. Поэтому пациенты с потенциально резектабельными метастазами должны получать максимально эффективное лечение и оперироваться, как только процесс станет резектабельным. При этом современная химиотерапия и таргетная терапия в зависимости от мутационного статуса и локализации опухоли являются неотъемлемой частью лечения больных метастатическим КРР.

Список источников

1. World Health Organization: international agency for research on cancer [Internet]. Доступно по: <https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/tables?mode=population&cancers=41>, Дата обращения 21.05.2024.
2. Старостин Р. А., Гатауллин Б. И., Валитов Б. Р., Гатауллин И. Г. Кооректальный рак: Эпидемиология и факторы риска. Поволжский онкологический вестник. 2021;12(4(48)):52–59. EDN: CMPKOS
3. Злокачественные новообразования в России в 2022 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, А. О. Шахзадовой, И. В. Лисичниковой. М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2023, 275 с.
4. Максимова П. Е., Голубинская Е. П., Сеферов Б. Д., Зяблицкая Е. Ю. Колоректальный рак: эпидемиология, канцерогенез, молекулярно-генетические и клеточные механизмы резистентности к терапии (аналитический обзор). Колопроктология. 2023;22(2(84)):160–171. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2023-22-2-160-171>, EDN: TWZBRV
5. Состояние онкологической помощи населению России в 2022 году. Под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, А. О. Шахзадовой. М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2022, 239 с.
6. Van Cutsem E, Nordlinger B, Adam R, Köhne CH, Pozzo C, Poston G, et al. Towards a pan-European consensus on the treatment of patients with colorectal liver metastases. Eur J Cancer. 2006 Sep;42(14):2212–2221. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2006.04.012>
7. Adam R, de Gramont A, Figueras J, Kokudo N, Kunstlinger F, Loyer E, et al. Managing synchronous liver metastases from colorectal cancer: a multidisciplinary international consensus. Cancer Treat Rev. 2015 Nov;41(9):729–741. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2015.06.006>
8. Kopetz S, Chang GJ, Overman MJ, Eng C, Sargent DJ, Larson DW, et al. Improved survival in metastatic colorectal cancer is associated with adoption of hepatic resection and improved chemotherapy. J Clin Oncol. 2009 Aug 1;27(22):3677–3683. <https://doi.org/10.1200/JCO.2008.20.5278>
9. Водолажский Д. И., Антонец А. В., Двадненко К. В., Владимирова Л. Ю., Геворкян Ю. А., Касаткин В. Ф. и др. Связь мутаций гена KRAS с клинико-патологическими особенностями колоректального рака у пациентов юга России. Международный журнал экспериментального образования. 2014;(1-1):65–68. EDN: RTFGVV

10. Carrato A, Abad A, Massuti B, Grávalos C, Escudero P, Longo-Muñoz F, et al. First-line panitumumab plus FOLFOX4 or FOLFIRI in colorectal cancer with multiple or unresectable liver metastases: A randomised, phase II trial (PLANET-TTD). *Eur J Cancer*. 2017 Aug;81:191–202. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2017.04.024>
11. Van Cutsem E, Cervantes A, Adam R, Sobrero A, Van Krieken JH, Aderka D, et al. ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol*. 2016 Aug;27(8):1386–1422. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdw235>
12. Bendell JC, Tournigand C, Swieboda-Sadlej A, Barone C, Wainberg ZA, Kim JG, et al. Axitinib or bevacizumab plus FOLFIRI or modified FOLFOX-6 after failure of first-line therapy for metastatic colorectal cancer: a randomized phase II study. *Clin Colorectal Cancer*. 2013 Dec;12(4):239–247. <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2013.09.001>
13. Petrelli F, Barni S. Anti-EGFR agents for liver metastases. Resectability and outcome with anti-EGFR agents in patients with KRAS wild-type colorectal liver-limited metastases: a meta-analysis. *Int J Colorectal Dis*. 2012 Aug;27(8):997–1004. <https://doi.org/10.1007/s00384-012-1438-2>
14. Modest DP, Denecke T, Pratschke J, Ricard I, Lang H, Bemelmans M, et al. Surgical treatment options following chemotherapy plus cetuximab or bevacizumab in metastatic colorectal cancer-central evaluation of FIRE-3. *Eur J Cancer*. 2018 Jan;88:77–86. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2017.10.028>
15. Ciliberto D, Staropoli N, Caglioti F, Chiellino S, Ierardi A, Ingargiola R, et al. The best strategy for RAS wild-type metastatic colorectal cancer patients in first-line treatment: A classic and Bayesian meta-analysis. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2018 May;125:69–77. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2018.03.003>
16. Fong Y, Fortner J, Sun RL, Brennan MF, Blumgart LH. Clinical score for predicting recurrence after hepatic resection for metastatic colorectal cancer: analysis of 1001 consecutive cases. *Ann Surg*. 1999 Sep;230(3):309–318. <https://doi.org/10.1097/0000658-199909000-00004>
17. Simmonds PC, Primrose JN, Colquitt JL, Garden OJ, Poston GJ, Rees M. Surgical resection of hepatic metastases from colorectal cancer: a systematic review of published studies. *Br J Cancer*. 2006 Apr 10;94(7):982–999. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6603033>
18. Kanas GP, Taylor A, Primrose JN, Langeberg WJ, Kelsh MA, Mowat FS, et al. Survival after liver resection in metastatic colorectal cancer: review and meta-analysis of prognostic factors. *Clin Epidemiol*. 2012;4:283–301. <https://doi.org/10.2147/CLEP.S34285>
19. Adam R, De Gramont A, Figueras J, Guthrie A, Kokudo N, Kunstlinger F, et al. The oncosurgery approach to managing liver metastases from colorectal cancer: a multidisciplinary international consensus. *Oncologist*. 2012;17(10):1225–1239. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2012-0121>
20. Adam R, Kitano Y. Multidisciplinary approach of liver metastases from colorectal cancer. *Ann Gastroenterol Surg*. 2019 Jan;3(1):50–56. <https://doi.org/10.1002/ags3.12227>
21. Tie J, Desai J. Targeting BRAF mutant metastatic colorectal cancer: clinical implications and emerging therapeutic strategies. *Target Oncol*. 2015 Jun;10(2):179–188. <https://doi.org/10.1007/s11523-014-0330-0>
22. Aigner F, Pratschke J, Schmelzle M. Oligometastatic Disease in Colorectal Cancer - How to Proceed? *Visc Med*. 2017 Mar;33(1):23–28. <https://doi.org/10.1159/000454688>
23. Douillard JY, Siena S, Peeters M, Koukakis R, Terwey JH, Tabernero J. Impact of early tumour shrinkage and resection on outcomes in patients with wild-type RAS metastatic colorectal cancer. *Eur J Cancer*. 2015 Jul;51(10):1231–1242. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2015.03.026>
24. Van Vledder MG, de Jong MC, Pawlik TM, Schulick RD, Diaz LA, Choti MA. Disappearing colorectal liver metastases after chemotherapy: should we be concerned? *J Gastrointest Surg*. 2010 Nov;14(11):1691–1700. <https://doi.org/10.1007/s11605-010-1348-y>
25. Choti MA. Chemotherapy-associated hepatotoxicity: do we need to be concerned? *Ann Surg Oncol*. 2009 Sep;16(9):2391–2394. <https://doi.org/10.1245/s10434-009-0512-7>
26. Adam R, Delvart V, Pascal G, Valeanu A, Castaing D, Azoulay D, et al. Rescue surgery for unresectable colorectal liver metastases downstaged by chemotherapy: a model to predict long-term survival. *Ann Surg*. 2004 Oct;240(4):644–658. <https://doi.org/10.1097/01.sla.0000141198.92114.f6>
27. Karoui M, Penna C, Amin-Hashem M, Mitry E, Benoist S, Franc B, et al. Influence of preoperative chemotherapy on the risk of major hepatectomy for colorectal liver metastases. *Ann Surg*. 2006 Jan;243(1):1–7. <https://doi.org/10.1097/01.sla.0000193603.26265.c3>

28. Heinemann V, von Weikersthal LF, Decker T, Kiani A, Vehling-Kaiser U, Al-Batran SE, et al. FOLFIRI plus cetuximab versus FOLFIRI plus bevacizumab as first-line treatment for patients with metastatic colorectal cancer (FIRE-3): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2014 Sep;15(10):1065–1075. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)70330-4](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)70330-4)
29. Sui CJ, Cao L, Li B, Yang JM, Wang SJ, Su X, et al. Anatomical versus nonanatomical resection of colorectal liver metastases: a meta-analysis. *Int J Colorectal Dis.* 2012 Jul;27(7):939–946. <https://doi.org/10.1007/s00384-011-1403-5>
30. Deng G, Li H, Jia GQ, Fang D, Tang YY, Xie J, et al. Parenchymal-sparing versus extended hepatectomy for colorectal liver metastases: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Med.* 2019 Oct;8(14):6165–6175. <https://doi.org/10.1002/cam4.2515>
31. Kokudo N, Miki Y, Sugai S, Yanagisawa A, Kato Y, Sakamoto Y, et al. Genetic and histological assessment of surgical margins in resected liver metastases from colorectal carcinoma: minimum surgical margins for successful resection. *Arch Surg.* 2002 Jul;137(7):833–840. <https://doi.org/10.1001/archsurg.137.7.833>
32. Hamady ZZR, Lodge JPA, Welsh FK, Toogood GJ, White A, John T, et al. One-millimeter cancer-free margin is curative for colorectal liver metastases: a propensity score case-match approach. *Ann Surg.* 2014 Mar;259(3):543–548. <https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e3182902b6e>
33. Ayez N, Lalmahomed ZS, Eggermont AMM, Ijzermans JNM, de Jonge J, van Montfort K, et al. Outcome of microscopic incomplete resection (R1) of colorectal liver metastases in the era of neoadjuvant chemotherapy. *Ann Surg Oncol.* 2012 May;19(5):1618–1627. <https://doi.org/10.1245/s10434-011-2114-4>
34. Кит О. И., Геворкян Ю. А., Солдаткина Н. В., Колесников В. Е., Харагезов Д. А. Лапароскопические комбинированные оперативные вмешательства при метастатическом колоректальном раке. *Колопроктология.* 2015;(4(54)):19–23. EDN: UQCUTH
35. Кит О. И., Геворкян Ю. А., Солдаткина Н. В., Колесников В. Е., Харагезов Д. А., Дашков А. В. и др. Малоинвазивные технологии в комплексном лечении колоректального рака с метастазами в печень. *Колопроктология.* 2014;(S3(49)):65–66. EDN: UAUMQB
36. Schmidt T, Nienhüser H, Kuna C, Klose J, Strowitzki MJ, Büchler MW, et al. Prognostic indicators lose their value with repeated resection of colorectal liver metastases. *Eur J Surg Oncol.* 2018 Oct;44(10):1610–1618. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2018.07.051>
37. Кит О. И., Геворкян Ю. А., Солдаткина Н. В., Колесников В. Е. Лапароскопическая хирургия колоректального рака. *Альманах Института хирургии им. А. В. Вишневского.* 2015;10(2):810–811. EDN: YPRAWC
38. Luo LX, Yu ZY, Huang JW, Wu H. Selecting patients for a second hepatectomy for colorectal metastases: an systemic review and meta-analysis. *Eur J Surg Oncol.* 2014 Sep;40(9):1036–1048. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2014.03.012>
39. Onaitis MW, Petersen RP, Haney JC, Saltz L, Park B, Flores R, et al. Prognostic factors for recurrence after pulmonary resection of colorectal cancer metastases. *Ann Thorac Surg.* 2009 Jun;87(6):1684–1688. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2009.03.034>
40. Gonzalez M, Poncet A, Combescure C, Robert J, Ris HB, Gervaz P. Risk factors for survival after lung metastasectomy in colorectal cancer patients: a systematic review and meta-analysis. *Ann Surg Oncol.* 2013 Feb;20(2):572–579. <https://doi.org/10.1245/s10434-012-2726-3>
41. Zabaleta J, Iida T, Falcoz PE, Salah S, Jarabo JR, Correa AM, et al. Individual data meta-analysis for the study of survival after pulmonary metastasectomy in colorectal cancer patients: A history of resected liver metastases worsens the prognosis. *Eur J Surg Oncol.* 2018 Jul;44(7):1006–1012. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2018.03.011>
42. Wiegering A, Riegel J, Wagner J, Kunzmann V, Baur J, Walles T, et al. The impact of pulmonary metastasectomy in patients with previously resected colorectal cancer liver metastases. *PLoS One.* 2017;12(3):e0173933. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173933>
43. Ganesh K, Shah RH, Vakiani E, Nash GM, Skottowe HP, Yaeger R, et al. Clinical and genetic determinants of ovarian metastases from colorectal cancer. *Cancer.* 2017 Apr 1;123(7):1134–1143. <https://doi.org/10.1002/cncr.30424>

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

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, Scopus Author ID: 23499757500

Колесников Владимир Евгеньевич – д.м.н., врач-хирург отделения абдоминальной онкологии № 2, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9979-4095>, SPIN: 9915-0578, AuthorID: 705852

Бондаренко Ольга Константиновна – врач-онколог отделения абдоминальной онкологии № 2, 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

Дашков Андрей Владимирович – к.м.н., врач-онколог отделения абдоминальной онкологии № 2, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3867-4532>, SPIN: 4364-9459, AuthorID: 308799

Вклад авторов:

Кит О. И. – концепция и дизайн исследования;

Геворкян Ю. А. – редактирование;

Солдаткина Н. В., Колесников В. Е., Бондаренко О. К., Дашков А. В. – сбор и обработка материалов;

Солдаткина Н. В. – статистическая обработка, написание текста.

Экстраневральное метастазирование глиомы головного мозга: описание случая у ребенка и обзор литературы

О. С. Регентова^{1✉}, Р. А. Пархоменко^{1,2}, О. И. Щербенко¹, Ф. Ф. Антоненко¹, Н. И. Зелинская¹,
Н. Сидибее¹, П. В. Полушкин¹, А. И. Шевцов¹, М. А. Ближниченко¹, В. А. Деянова¹, В. А. Солодкий¹

¹ ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация

² ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Российская Федерация

✉ olgagraudensh@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Глиомы высокой степени злокачественности среди всех опухолей центральной нервной системы (ЦНС) составляют до 25 % у взрослых и 8–15 % у детей. Примерно половина из них в детском возрасте имеет срединную локализацию и обозначается термином «диффузные срединные глиомы» (ДСГ). При срединных глиомах у детей, локализующихся в области моста, в 78 % случаев отмечается гетерозиготная соматическая мутация H3K27M. Прогноз H3K27M-мутантной ДСГ весьма неблагоприятный: 2-летняя общая выживаемость менее 10 %. Один из путей прогрессирования глиом, ведущий к гибели больного – это распространение опухоли в виде метастазов. Злокачественные глиомы метастазируют, главным образом, в различные структуры ЦНС (по данным аутопсий – примерно у 20 % пациентов с глиобластомами); вероятность возникновения их метастазов в других органах (так называемых, экстраневральных метастазов), по некоторым оценкам, весьма мала – не более 2 %. В нашей практике, насчитывающей 1700 детей со злокачественными глиомами, включая 830 пациентов с ДСГ (пролеченных за период с 1993 г.), нам встретился лишь один больной с экстраневральными метастазами. В настоящей статье мы описываем этот случай: ребенок умер от прогрессирования экстраневральных метастазов ДСГ, несмотря на то что при химиолучевом лечении удалось достичь ее стабилизации в ЦНС. У этого больного с исходным поражением моста головного мозга и мозжечка имело место массивное метастазирование в лимфатические узлы: надключичные, медиастинальные, забрюшинные, паховые, а также в обе плевральные полости, которое произошло примерно через год после лечения прогрессирования, проявлявшегося в виде продолженного роста первичной опухоли и ее диссеминации в ЦНС. В статье приводятся данные литературы о частоте, клинических проявлениях и возможных подходах к лечению при экстраневральном метастазировании глиом головного мозга. Чаще всего наблюдается экстраневральное метастазирование этих опухолей в кости, лимфатическую систему, легкие, органы брюшной полости, мягкие ткани. Эффективного лечения при возникновении экстраневральных метастазов глиом не разработано, что делает актуальным решение этой проблемы путем многоцентровых исследований.

Ключевые слова: злокачественная глиома, головной мозг, экстраневральные метастазы, лучевая терапия, химиотерапия

Для цитирования: Регентова О. С., Пархоменко Р. А., Щербенко О. И., Антоненко Ф. Ф., Зелинская Н. И., Сидибее Н., Полушкин П. В., Шевцов А. И., Ближниченко М. А., Деянова В. А., Солодкий В. А. Экстраневральное метастазирование диффузной срединной глиомы головного мозга у ребенка: описание случая и обзор литературы. Южно-Российский онкологический журнал. 2024; 5(3): 111-120.
<https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-3-10>, <https://elibrary.ru/pfvhlb>

Для корреспонденции: Регентова Ольга Сергеевна – к.м.н., заведующий отделением лучевой терапии детей с койками онкологии, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
Адрес: 117997, Российская Федерация, г. Москва, ул. Профсоюзная, д. 86
E-mail: olgagraudensh@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0219-7260>
SPIN: 9657-0598, AuthorID: 1011228

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 «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации (выписка из протокола заседания № 2 от 09.12.2022 г.). Информированное согласие получено от всех участников исследования

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось

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

Статья поступила в редакцию 24.07.2024; одобрена после рецензирования 15.08.2024; принята к публикации 25.08.2024

© Регентова О. С., Пархоменко Р. А., Щербенко О. И., Антоненко Ф. Ф., Зелинская Н. И., Сидибее Н., Полушкин П. В., Шевцов А. И., Ближниченко М. А., Деянова В. А., Солодкий В. А., 2024

Extraneural metastases of a cerebral glioma in a child: case report with literature review

O. S. Regentova^{1✉}, R. A. Parkhomenko^{1,2}, O. I. Shcherbenko¹, F. F. Antonenko¹, N. I. Zelinskaya¹, N. Sidibe¹, P. V. Polushkin¹, A. I. Shevtsov¹, M. A. Bliznichenko¹, V. A. Deyanova¹, V. A. Solodkiy¹

¹ Russian Scientific Center of Roentgen Radiology, Moscow, Russian Federation

² RUDN University, Moscow, Russian Federation

✉ olgagraudensh@mail.ru

ABSTRACT

Malignant gliomas make up 25 % of the central nervous system (CNS) tumors in adults and 8–15 % in children. About half of such gliomas have a median localization and are designated by the term "diffuse midline gliomas" (DMG). DMG in children are typically localized in the area of the pons; in 78 % of such cases a heterozygous somatic mutation H3K27M is present. The prognosis of H3K27M-mutant DSG is very unfavorable, with 2-year overall survival rate being less than 10 %. One of the ways of progression of gliomas leading to the death of patients is the spread of the tumor in the form of metastases. Malignant gliomas metastasize mainly into various structures of the CNS (according to autopsies – in about 20 % of patients with glioblastomas), the probability of their metastases to other organs (so-called extraneural metastases), according to some evaluations, is quite rare and doesn't exceed 2 %. In our practice since 1993, which counts 1700 children with malignant gliomas, including 830 patients with DMG, we've observed only one patient with extraneural metastases. The article describes this case of a child who died of the progression of the DMG's extraneural metastases, despite the fact that chemoradiotherapy had achieved its stabilization in the CNS. This patient with the initial lesion of the pons and cerebellum had massive metastasis to the lymph nodes: supraclavicular, mediastinal, retroperitoneal and inguinal ones, as well as to both pleural cavities, which occurred about one year after treatment of the progression, which had manifested in the form of continued growth of the primary tumor and its dissemination in the central nervous system. The article provides literature data on the frequency, clinical manifestations and possible treatment approaches for extraneural metastasis of brain gliomas. Extraneural metastases of those tumors occur most often to the bones, lymphatic system, lungs, abdominal organs, soft tissues. The effective treatment for extraneural metastases of gliomas has not been developed yet, which makes it urgent to solve this problem through multicenter studies.

Keywords: malignant glioma, brain, extraneural metastases, radiotherapy, chemotherapy

For citation: Regentova O. S., Parkhomenko R. A., Shcherbenko O. I., Antonenko F. F., Zelinskaya N. I., Sidibe N., Polushkin P. V., Shevtsov A. I., Bliznichenko M. A., Deyanova V. A., Solodkiy V. A. Extraneural metastases of a cerebral glioma in a child: case report with literature review. South Russian Journal of Cancer. 2024; 5(3): 111-120. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-3-10>, <https://elibrary.ru/pfvhlb>

For correspondence: Olga S. Regentova – Cand. Sci. (Med.), MD, head of Pediatric Radiation Oncology Department with beds for oncology patients, Russian Scientific Center of Roentgen Radiology, Moscow, Russian Federation
Address: 86 Profsoyuznaya Street, Moscow 117997, Russian Federation
E-mail: olgagraudensh@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0219-7260>
SPIN: 9657-0598, AuthorID: 1011228

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 Russian Scientific Center of Roentgen Radiology (extract from the protocol of the meeting No. 2 dated 09.12.2022). Informed consent has been received from all the participants of the study.

Funding: this work was not funded

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

The article was submitted 24.07.2024; approved after reviewing 15.08.2024; accepted for publication 25.08.2024

ВВЕДЕНИЕ

Злокачественные глиомы представляют собой одну из наиболее сложных и агрессивных форм нейроонкологических заболеваний. Глиомы высокой степени злокачественности среди всех опухолей центральной нервной системы (ЦНС) составляют до 25 % у взрослых и 8–15 % у детей. Примерно половина из них в детском возрасте имеет срединную локализацию и обозначается термином «диффузные срединные глиомы» (ДСГ). При срединных глиомах у детей, локализующихся в области моста, в 78 % случаев отмечается гетерозиготная соматическая мутация H3K27M. Прогноз H3K27M-мутантной ДСГ весьма неблагоприятный: 2-летняя общая выживаемость менее 10 % [1–5].

Один из путей прогрессирования глиом, ведущий к гибели больного – это распространение опухоли в виде метастазов. Злокачественные глиомы метастазируют, главным образом, в различные структуры ЦНС (по данным аутопсий – примерно у 20 % пациентов с глиобластомами), вероятность возникновения их метастазов в других органах (так называемых экстраневральных метастазов), по некоторым оценкам, весьма мала – не более 2 % [6, 7]. Экстраневральное метастазирование, хотя и является редким феноменом при диффузных срединных глиомах, имеет критическое значение в контексте прогноза и дальнейшей тактики ведения пациентов, поскольку может существенно ухудшить качество жизни и снизить выживаемость. Представленный клинический случай подчеркивает необходимость многогранного подхода к диагностике и лечению данной патологии, а также актуализирует вопросы о молекулярно-генетических механизмах, лежащих в основе экстраневрального распространения опухоли. Обзор имеющейся литературы отражает текущие тенденции в исследовании данной области. При составлении обзора мы использовали ресурсы баз данных Scopus, MEDLINE, Web of Science.

Цель исследования: дать описание случая экстраневрального метастазирования злокачественной глиомы у ребенка и сопоставить его с данными литературы, что позволит наметить направления дальнейших исследований данной проблемы.

Описание случая

У мальчика Н. в 2021 г., в возрасте около 3,5 лет, стала отмечаться косолапость, ходьба на широкой базе. Консультирован ортопедом. Был поставлен

диагноз: плоско-вальгусная деформация стоп. В течение последующего месяца отмечалось ухудшение походки в виде нарастания шаткости, стал прихрамывать на левую ногу, начал спотыкаться, ухудшилась моторика левой руки.

Из анамнеза жизни: ребенок от беременности с экстракорпоральным оплодотворением (ЭКО), протекавшей без патологии. Роды срочные в 38 недель. Наблюдался у невролога по поводу перинатального поражения ЦНС, миотонического синдрома. До настоящего заболевания перенес острую респираторную вирусную инфекцию (ОРВИ), правосторонний гнойный отит.

Выполнена магнитно-резонансная томография (МРТ) головного мозга 03.08.2021 г.: в области варолиева моста (преимущественно в его левой половине) с распространением на левые ножку и гемисферу мозжечка визуализирована обширная зона диффузного изменения сигнала, гиперинтенсивного на T2, FLAIR, изо-гипоинтенсивного на T1, с линейным ограничением диффузии по периферии, без контрастного усиления, с наличием в гемисфере мозжечка участков кистозной трансформации. Мост мозга, ножка и гемисфера мозжечка увеличены в объеме, со сдавлением и смещением IV желудочка латерально вправо, смещением левой миндалины мозжечка каудальнее уровня большого затылочного отверстия, смещением продолговатого мозга вентрально; по передней поверхности моста – экзофитный компонент с компрессией препонтиной цистерны, обрастанием основной артерии. Заключение: картина диффузного поражения ствола мозга, левой гемисферы мозжечка, что может соответствовать диффузно растущей глиальной опухоли (фибрилярная астроцитома? анапластическая астроцитома?), с признаками масс-эффекта, нисходящего аксиального вклинения, окклюзионной внутренней гидроцефалии.

Неврологический статус 04.08.2021 г.: рвота однократно, менингеальные симптомы отрицательные, зрачки, глазные щели симметричны, не наблюдается нарушения объема движения и положения глазных яблок, отклонения головы и языка, нарушения фонации и глотания; горизонтальный мелкоразмашистый нистагм при взгляде в стороны; сухожильные рефлексы D < S, слева ахиллов рефлекс с клонусом; поверхностная и глубокая мышечная чувствительность сохранены; походка атактическая, с широкой базой опоры; выполнение

пальценосовой пробы с выраженной интенцией; в позе Ромберга неустойчив, падает.

Ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости, почек 04.08.2021 г.: патологических признаков не выявлено.

Рентгенография органов грудной клетки (в задней прямой проекции, лежа) 04.08.2021 г.: снижение пневматизации с усилением легочного рисунка в проекции медиобазальных отделов обоих легочных полей. Заключение: гипостатические изменения в легких.

С 04.08.2021 г. начал получать противоотечную терапию (дексаметазон). На фоне проводимого лечения общемозговая симптоматика регрессировала, сохранялись статико-координационные нарушения. МРТ головного и спинного мозга (нативная и с контрастным усилением) 12.08.2021 г.: дополнительно к данным МРТ от 03.08.2021 г. – признаков метастазирования по структурам ЦНС не выявлено.

От предложенных нейрохирургом стереотаксической биопсии или парциального удаления опухоли мама отказалась. Консультирован радиотерапевтом: учитывая данные анамнеза, признаки при МРТ, возраст пациента, нерезектабельный характер опухоли, показано проведение конформной лучевой терапии. Выполнено оперативное вмешательство в объеме установки вентрикулоперитонеального шунта (ВПШ) 06.09.2021 г. С 08.09.2021 по 18.10.2021 гг. получил курс лучевой терапии на зону исходного поражения в режиме гиперфракционирования (разовая очаговая доза (РОД) 1 Гр 2 раза в день с интервалом между фракциями 4 ч, 5 дней в неделю), суммарная очаговая доза (СОД) 54 Гр. С ноября 2021 г. находился на динамическом наблюдении. Позитронная эмиссионная томография, совмещенная с рентгеновской компьютерной томографией (ПЭТ/КТ) головного мозга 29.11.2021 г.: ПЭТ-картина в совокупности с результатами МРТ соответствует представлению о диффузной глиоме ствола мозга и левого полушария мозжечка с низким захватом аминокислоты (без ПЭТ-признаков анаплазии). В конце апреля 2022 г. после ОРВИ – двусторонний гнойный отит, синус-тромбоз.

30.05.2022 г. МРТ ЦНС (нативное и с контрастным усилением): картина разнонаправленной динамики: стабилизация роста опухоли ствола головного мозга и левой гемисферы мозжечка, отрицательной динамики в виде метастатического поражения по ходу желудочковой системы и спинного мозга.

17.06.2022 г. выполнена операция – ревизия ВПШ. 24.06.2022 г. – стереотаксическая биопсия опухоли бокового желудочка. Гистологическое и иммуногистохимическое исследование от 24.06.2022 г.: клетки опухоли экспрессируют GFAR, OLIG2, виментин, фокально S100. Наблюдается реакция с анти-NF в многочисленных аксонах, что свидетельствует о диффузном типе роста опухоли. Единичные клетки слабо позитивны с анти-p53. Экспрессия CD34 только в эндотелии сосудов. Пролиферативный индекс Ki-67 достигает 60–70 %, фокально выше.

С 08.07.2022 по 16.08.2022 гг. проведена лучевая терапия в объеме краниоспинального облучения, РОД 1,6 Гр, СОД 35,2 Гр. С 08.08.2022 по 10.08.2022 гг. на весь объем спинного мозга СОД доведена до 40,0 Гр, параллельно с 08.08.2022 по 16.08.2022 гг. выполнен буст на область желудочков мозга, РОД 1.8 Гр, до СОД 46 Гр. На фоне курса облучения получал монокимиотерапию темозоломидом 75 мг/м² ежедневно.

Молекулярное исследование по программе One Foundaion выявило амплификации: PDGFRA, MDM4, PIK3C2B, а также ATM – R3008C. С учетом выявленной амплификации PDGFRA, больному предложили терапию иматинибом, которая не была проведена по организационным причинам. По данным контрольных МРТ отмечалась положительная динамика очагов опухоли в ЦНС, с дальнейшей стабилизацией. С сентября 2022 г. по июнь 2023 г. проведено 8 курсов монокимиотерапии темозоломидом. После этого лечение было прервано в связи с развитием ОРВИ.

С середины июля 2023 г. мать стала замечать, что ребенок прихрамывает на левую ногу. По данным КТ органов грудной полости, брюшной полости и малого таза (нативной и с контрастным усилением), определялись конгломераты лимфоузлов надключичной, подключичной области справа, передней грудной стенки, парааортальной группы на инфраренальном уровне с распространением в паховый канал слева; массивный правосторонний плевральный выпот; левосторонний плевральный выпот; пиелокаликоектазия слева, снижение функции левой почки. С учетом полученных данных заподозрено наличие системного заболевания – лимфомы. При МРТ ЦНС отмечалась стабилизация размеров опухолевых очагов по сравнению с предыдущими исследованиями.

В августе 2023 г. ребенку выполнены плевральная пункция, а также пункционная биопсия костного мозга с его морфологическим исследованием и иммунофенотипированием: данных за системное

заболевание крови не получено. В плевральной жидкости выявлена опухолевая популяция клеток, которые, по данным иммунофенотипирования, не экспрессировали маркеры, специфические для лимфопролиферативных заболеваний. 21.08.2023 г. выполнена биопсия пахового лимфоузла, его гистологическое исследование от 01.09.2023 г. выявило признаки злокачественной опухоли с глиальным фенотипом. Заключение: нельзя исключать экстраневральное метастазирование первичной опухоли ЦНС. Протокол иммуногистохимического исследования от 01.09.2023 г. ткани пахового лимфатического узла: неопластические клетки диффузно экспрессируют OLIG2, H2K27me3, CD56, SOX-10, INI1. Субтотальная экспрессия NKX2.2, GFAP, vimentin. Слабая фокальная экспрессия NSE, FLI1, S100, cyclin D1. Клетки опухоли негативны в реакциях с антителами к раnCK, EMA, TLE1, WT1, SMA, mean-A, BCOR, ERG, synapophysin, myogenin, p53, chromogranin A, TdT, desmin, CD20, CD3, CD99, MSA. Протокол молекулярно-генетического исследования от 01.09.2023 г.: при исследовании методом FISH не обнаружено: амплификации гена N-MYC, делеции гена SRD (1p36), делеции гена KMT2A (MLL), перестроек гена FOXR2, транслокации гена EWSR1.

Было предложено паллиативное облучение опухолевых конгломератов в зонах экстраневрального метастазирования, однако на это лечение больной не явился. Он умер 11.01.2024 г. на фоне прогрессирования экстраневральных метастазов.

ОБСУЖДЕНИЕ И ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

У описанного нами больного с исходным поражением моста головного мозга и мозжечка (ДСГ) имело место массивированное метастазирование в лимфатические узлы: надключичные, медиастинальные, забрюшинные, паховые, а также в обе плевральные полости, которое произошло примерно через год после лечения прогрессирования, проявившегося в виде продолженного роста первичной опухоли и ее диссеминации в ЦНС. Не удивительно, что до биопсии и молекулярно-генетических исследований не исключали развитие второй опухоли, в том числе, лимфомы. Примечательно, что на этапе диагностики прогрессирования ДСГ была применена стереотактическая биопсия, которая, безусловно, была необходима для уточнения диагноза, тем не менее, могла потенциально способствовать распространению опухоли, о чем

говорят некоторые публикации, приведенные ниже. При исходной постановке диагноза в 2021 г., до начала специального лечения, пациент прошел полное обследование, включая УЗИ органов брюшной полости, почек, рентгенографию органов грудной клетки, по данным которых признаков экстраневрального метастазирования выявлено не было.

Первым экстраневральное метастазирование глиобластомы описал L. Davis еще в 1928 г. Он ее называл «спонгиобластома». Первичная опухоль у 31-летней больной локализовалась в левом полушарии головного мозга. Гистологически подтвержденные метастазы развились в мягких тканях верхней конечности и в лопаточной области справа, а также в левом легком; они появились примерно через 5,5 месяцев после частичного удаления первичной опухоли [8].

S. Pietschmann и соавт. (2015) проанализировали 109 статей и тезисов докладов, опубликованных на английском или немецком языке за период с 1928 по 2013 гг. (85 лет), в которых сообщалось в общей сложности о 150 пациентах с экстраневральными метастазами злокачественных глиом головного мозга. Примечательно, что более половины проанализированных ими публикаций (описывающих 95 случаев) были сделаны после 1993 г. Возраст больных при постановке первичного диагноза варьировал от 4 до 83 лет (медиана 42 года). Детей (младше 18 лет) в этой совокупной когорте оказалось всего четверо. У большинства пациентов патоморфологический диагноз был глиобластома (у 137, то есть у 91,3 %), у остальных 13 (8,7 %) – глиосаркома. Время от постановки первичного диагноза до выявления экстраневральных метастазов из этих публикаций удалось точно установить для 71 пациента. Из них у 7 (то есть у каждого десятого) первичная опухоль и метастазы были диагностированы одновременно. С учетом этих больных период от постановки диагноза глиобластомы или глиосаркомы до выявления метастазов колебался от 0 до 81 месяца (медиана 9 месяцев). Локализация метастазов была разнообразной: в 52 случаях в органах грудной клетки (в том числе у 45 больных – в легких), в 31 случае в органах брюшной полости и забрюшинного пространства (в том числе у 23 пациентов – в печени). Кроме того, описаны метастазы в кости или в костный мозг у 53 больных, в лимфатические узлы у 51, в мышцы и в другие мягкие ткани у 35, в кожу у 11, в щитовидную и околощитовидные железы у 6, в другие органы (включая глаза и молочные желе-

зы) у 4. У значительной доли больных наблюдалось несколько локализаций метастазов. В публикациях, вошедших в этот обзор [9], достаточное описание лечения после выявления метастазов было представлено для 60 из 150 больных (40 %), у остальных о лечении либо не сообщалось, либо оно не включало противоопухолевые методы. Двадцать девять пациентов после обнаружения метастазов были пролечены каким-либо одним противоопухолевым методом: у 17 из них проведена операция, у 4 – облучение и у 8 – химиотерапия. У 31 больного в такой ситуации применялись различные варианты сочетания указанных методов, чаще всего: химиотерапия + радиотерапия (у 15) и операция + химиотерапия + радиотерапия (у 10). В этом обзоре [9] отмечено, что экстракраниальные метастазы злокачественных глиальных опухолей чаще обнаруживаются у лиц сравнительно молодого возраста, что может служить одним из аргументов применения у них активного противоопухолевого лечения. Тем не менее, авторы не выявили явного повышения выживаемости при такой тактике лечения. Общая выживаемость при экстракраниальных метастазах была несколько лучше выживаемости при метастазах по ЦНС, хотя это различие и не достигло границы достоверности. Авторы не смогли сформулировать каких-либо определенных рекомендаций по лечению больных с экстракраниальными метастазами злокачественных глиальных опухолей, так как в проанализированной ими совокупной когорте лечение было весьма разнообразным и подбиралось индивидуально [9].

Несомненный интерес представляет работа L. De Martino и соавт., 2023 [10], в которой описано собственное наблюдение авторов за двумя детьми с экстракраниальными метастазами диффузных срединных глиом. У одного из них, 11 летнего мальчика, диффузная срединная глиома моста была подтверждена при стереотаксической биопсии. В клетках опухоли обнаружена потеря H3K27me3 и экспрессия протеина, связанного с повреждением H3K27M. На первом этапе лечения больному проведена индукционная химиотерапия винорелбином и нимотузумабом, затем – облучение зоны опухоли в режиме обычного фракционирования, СОД 54 Гр (по методике VMAT). Через 5 месяцев после постановки диагноза, с помощью КТ и МРТ у данного пациента выявили обширное метастазирование по мягким мозговым оболочкам головного и спинного мозга, а также экстракраниальные метастазы: в грудине, позвонках и в костях таза.

Костные метастазы были подтверждены при исследовании биоптата левой подвздошной кости. Через месяц он умер. У второй больной, девочки того же возраста, диагностировали срединную глиому в области IV желудочка с мутацией H3K27M. Была выполнена тотальная резекция опухоли, диагноз подтвердили на основании гистологического и молекулярно-генетического исследования ее ткани. Как и у первого больного, после химиотерапии винорелбином и нимотузумабом у нее проведена локальная лучевая терапия (СОД 54 Гр, методика VMAT). Однако через 3 месяца после окончания курса лечения у нее было выявлено прогрессирование в области исходной опухоли, а также по эпендиме желудочков головного мозга и по его мягким оболочкам. Проведено краниоспинальное облучение (КСО) в режиме классического фракционирования, СОД 36 Гр с последующей 15-месячной химиотерапией иринотеканом и бевацизумабом. После завершения КСО, по данным МРТ, констатирован частичный ответ опухолевых очагов в головной мозге, однако появились признаки метастазов в позвонках. КТ всего тела позволило обнаружить остеосклеротические очаги не только в позвоночнике, но и в ребрах, грудине, костях таза, в обеих плечевых и бедренных костях. ПЭТ/КТ с ¹⁸F-FDG выявила очаги умеренной гиперфиксации в костях, однако неоднократные биопсии этих очагов не выявили метастазов. В дальнейшем у нее развилось поражение большого числа внутригрудных и абдоминальных лимфатических узлов, а также плевральный выпот, исследование которого методом капельной цифровой полимеразной цепной реакции выявило мутацию H3.3A (с.83A > T, p.K28M), хотя цитологическое исследование плеврального выпота опухолевых клеток не обнаружило. Больная умерла 2 года спустя после постановки диагноза срединной глиомы, то есть через 3 месяца после выявления плеврального выпота. Авторы описания этих двух пациентов при изучении медицинской литературы нашли публикации о 12 аналогичных больных: их возраст колебался от 4 до 36 лет, локализация экстракраниальных рецидивов была разнообразной: кости, лимфатические узлы, легкие, плевральная полость, печень, брюшина, мышцы. У одного из этих больных наблюдалось метастазирование по брюшной полости, обусловленное распространением опухолевых клеток по ВПШ [11]. Примечательно, что описания 12 случаев, собранные в названном обзоре L. De Martino и со-

авт. (2023), были опубликованы не ранее 2014 г., то есть начиная с того времени, когда формировалось понятие «диффузная срединная глиома». Авторы этого обзора высказывают опасение, что, вероятно, частота экстраневральных метастазов у больных с диффузными срединными глиомами недооценивается, поскольку их не принято рутинно обследовать с целью выявления таких метастазов. В статье указывается на возможность повышения риска экстраневральных метастазов в связи с хирургическими вмешательствами на первичных опухолях. Интересна также высказанная в статье гипотеза, которая может объяснить, почему экстраневральные метастазы редки при злокачественных глиомах. Вероятно, за пределами ЦНС клетки глиом чаще всего уничтожаются иммунной системой, а в головном мозге эти клетки защищены, при этом они находятся в благоприятном для них микроокружении. Эту гипотезу подтверждают описания случаев возникновения экстраневральных метастазов глиобластомы у больных, ранее прошедших трансплантацию органов [12, 13].

В обзор литературы, сделанный в упомянутой статье L. De Martino и соавт. [10], не вошла работа китайских исследователей X. Ge и соавт. [5], в которой описано развитие экстраневральных метастазов диффузной срединной глиомы области ствола головного мозга у мальчика 9 лет. Первичная опухоль у него диагностирована на основании данных МРТ ЦНС с последующей стереотаксической биопсией. Гистологическая картина соответствовала анапластической астроцитарной глиоме (IV степень злокачественности по классификации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ)), иммуногистохимическое исследование выявило протеин, образующийся при мутации H3K27M. Диссеминации по головному и спинному мозгу изначально не было. Из-за гидроцефалии было выполнено вентрикулоперитонеальное шунтирование. Пациенту провели локальное облучение зоны опухоли, СОД 50 Гр за 25 фракций на фоне химиотерапии темозоломидом в суточной дозе 75 мг/м². Через месяц после окончания облучения МРТ показала слабо выраженное уменьшение объема опухоли. Больной получил адъювантную химиотерапию темозоломидом: 5 циклов по 5 дней, каждые 28 дней, суточная доза этого препарата составляла 150 мг/м² в первый цикл, 200 мг/м² во все последующие. Через 2 месяца после окончания химиотерапии пациент пожаловался на опускание правого угла

рта, а также на боли в спине и пояснице. МРТ выявила прогрессирование первичной опухоли, диссеминацию в спинном мозге и по мягким мозговым оболочкам, а также очаги деструкции поясничных и крестцовых позвонков с патологическим контрастным усилением. При ПЭТ/КТ было обнаружено диффузное повышение метаболизма в шейном, грудном и пояснично-крестцовом отделах позвоночника. У больного вскоре появились боли в шее и задержка мочеиспускания. Несмотря на попытку химиотерапии (один цикл винкристина и циклофосфамида), улучшения достигнуто не было, и пациент умер через 1 месяц после выявления метастазирования опухоли.

Авторы всех приведенных выше публикаций подчеркивают, что эффективные программы лечения больных с экстраневральными метастазами злокачественных глиом ЦНС пока не разработаны. Это объясняется как относительной редкостью таких случаев, так и их тяжестью. Поэтому столь ценны хотя бы единичные сообщения, которые указывают на возможность продления жизни таких больных.

В качестве примера подобного наблюдения можно привести описание случая, сделанное G. Yang и соавт. [14]. У мужчины 58 лет исходно при МРТ было выявлено опухолевое поражение правых височной и затылочной долей в виде нескольких узлов. В препарате тотально удаленной опухоли при гистологическом исследовании выявлены признаки глиобластомы с участками олигодендроглиомы. После проведения комбинированного лечения (операция, местная лучевая терапия, СОД 60 Гр обычными фракциями и химиотерапия темозоломидом), по данным МРТ, остатков опухоли не наблюдалось. Однако через полгода после окончания лечения был выявлен местный рецидив, проведена повторная лучевая терапия на его зону, СОД 30 Гр пятью фракциями и несколько циклов бевацизумаба. Удалось достигнуть частичного ответа и улучшения качества жизни. Однако через 2 года на фоне стабилизации очагов опухоли в головном мозге обнаружили множественные, гистологически подтвержденные метастазы в правом легком, а затем и в костях. Поскольку в ткани метастазов в легком выявили экспрессию PD-L1, а при попытке лечения бевацизумабом и темозоломидом отмечено небольшое увеличение очагов в легком, к лечению решили добавить пембролизумаб. Было проведено 5 циклов с этим препаратом. В результате отмечен частичный ответ в легком,

при стабильном состоянии опухолевой ткани в головном мозге. Темозоломид был отменен из-за синдрома усталости и отсутствия метилирования промотора MGMT в ткани опухоли; продолжено лечение бевацизумабом и пембролизумабом. Однако через несколько месяцев развились метастазы в костях, но больной продолжал получать то же лечение ввиду отсутствия у его врачей на тот момент каких-либо альтернатив. Прогрессирование метастазов продолжалось, однако авторы считают, что указанные лекарственные препараты позволили замедлить этот процесс. В результате больной прожил довольно долго после диагностики легочных метастазов: 27 месяцев, в то время как в серии пациентов с экстракраниальными метастазами глиобластомы, опубликованной Е. К. Noch и соавт. [15], средняя продолжительность жизни после их обнаружения составила 5 месяцев (от 1 до 16 месяцев), примечательно, что у них пембролизумаб не применялся.

Ј. Undabeitia и соавт. [16] описывают случай экстракраниальных метастазов глиобластомы у больной 20 лет. Первичная опухоль локализовалась в правой височной области головного мозга; проведено тотальное ее удаление, с последующим химиолучевым лечением. Метастазы в оба легких и в плевральные полости, а также в поджелудочную железу и позвонки возникли через 5 месяцев после операции. Метастазы в легких носили характер инфильтратов, их подтвердили с помощью биопсии. Была предпринята попытка химиотерапии иринотеканом и бевацизумабом, однако больная умерла.

А. В. Ким и соавт. описывают 16 летнего больного, у которого глиобластома исходно локализовалась в левой теменной доле головного мозга. Через 6 месяцев после операции, дополненной местным облучением и химиотерапией, она метастазировала в V шейный позвонок, что было подтверждено при гистологическом и иммуногистохимическом исследовании ткани этого позвонка [17].

О. Ю. Размологова и Т. В. Соколова сообщили о случае находки на аутопсии метастазов глиобластомы в легких у больной 64 лет, умершей вскоре после операции удаления глиобластомы левой теменной доли головного мозга. Эти метастазы были подтверждены иммуногистохимическим методом с определением экспрессии глиального фибриллярного кислого белка [18]. Аналогичного пациента описали Б. Жетписбаев и Б. Исаханова:

у мужчины 53 лет была предпринята частичное удаление опухоли из височной доли правого полушария, в послеоперационном периоде отмечалось ухудшение состояния в виде угнетения сознания, нестабильной гемодинамики, больной умер. Гистологическое исследование удаленной ткани опухоли выявило глиобластома, при исследовании левого легкого случайно обнаружен опухолевый очаг, который по данным гистологического и иммуногистохимического исследования соответствовал метастазу глиобластомы [19].

Приведенные нами сведения по проблеме экстракраниального метастазирования глиом головного мозга основаны на двух крупных обзорах [9, 10] и не вошедших в них описаний отдельных случаев. В последние 20–30 лет наблюдается тенденция к росту числа подобных публикаций. Это можно объяснить совершенствованием различных компонентов нейроонкологии, в особенности патоморфологии и лучевой диагностики. Кроме того, развитие методик хирургии, лучевой терапии и лекарственного лечения дает шанс больным на удлинение срока жизни, во время которого такие метастазы способны проявиться. При относительной редкости возникновения экстракраниальных метастазов у больных со злокачественными глиомами есть все же основания полагать, что оценки по их частоте являются пока заниженными. По-видимому, они остаются у многих пациентов нераспознанными на фоне прогрессирования опухоли в ЦНС, вместе с тем, усугубляя тяжесть течения заболевания. Правомочность этого предположения подтверждают случаи обнаружения occultных метастазов в легких [18, 19].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, экстракраниальное метастазирование злокачественных глиом головного мозга встречается редко, однако его вероятность следует учитывать как при постановке исходного диагноза, так и при последующих контрольных обследованиях, в особенности у пациентов, прошедших различные хирургические вмешательства на опухоли или шунтирующие операции. Несмотря на неуклонно возрастающее число публикаций по данной тематике, до сих пор нет точных сведений о частоте таких метастазов, об оптимальных способах их ранней диагностики, не разработана эффективная лечебная тактика при их возникно-

вании. Кроме того, не ясна причина редкости экстраневральных метастазов при опухолях ЦНС; ее изучение могло бы пролить свет на аспекты патогенеза этих новообразований, а значит открыть

новые направления их терапии. Для решения указанных проблем требуются многоцентровые исследования с привлечением усилий ведущих нейроонкологических клиник.

Список источников

1. Aggarwal P, Luo W, Pehlivan KC, Hoang H, Rajappa P, Cripe TP, et al. Pediatric versus adult high grade glioma: Immunotherapeutic and genomic considerations. *Front Immunol*. 2022;13:1038096. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1038096>
2. Lu VM, Alvi MA, McDonald KL, Daniels DJ. Impact of the H3K27M mutation on survival in pediatric high-grade glioma: a systematic review and meta-analysis. *J Neurosurg Pediatr*. 2019 Mar 1;23(3):308–316. <https://doi.org/10.3171/2018.9.PEDS18419>
3. Wang Y, Feng LL, Ji PG, Liu JH, Guo SC, Zhai YL, et al. Clinical Features and Molecular Markers on Diffuse Midline Gliomas With H3K27M Mutations: A 43 Cases Retrospective Cohort Study. *Front Oncol*. 2020;10:602553. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.602553>
4. Navarro RE, Golub D, Hill T, McQuinn MW, William C, Zagzag D, et al. Pediatric midline H3K27M-mutant tumor with disseminated leptomeningeal disease and glioneuronal features: case report and literature review. *Childs Nerv Syst*. 2021 Jul;37(7):2347–2356. <https://doi.org/10.1007/s00381-020-04892-0>
5. Ge X, Yang Y, Wang W, Tian L, Zhang G, Tian Z, et al. Pediatric H3K27M mutant diffuse midline glioma with vertebral metastasis: A case report and literature review. *Oncol Lett*. 2024 Feb;27(2):48. <https://doi.org/10.3892/ol.2023.14181>
6. Beauchesne P. Extra-neural metastases of malignant gliomas: myth or reality? *Cancers (Basel)*. 2011 Jan 27;3(1):461–477. <https://doi.org/10.3390/cancers3010461>
7. Hamilton JD, Rapp M, Schneiderhan T, Sabel M, Hayman A, Scherer A, et al. Glioblastoma multiforme metastasis outside the CNS: three case reports and possible mechanisms of escape. *J Clin Oncol*. 2014 Aug 1;32(22):e80–84. <https://doi.org/10.1200/JCO.2013.48.7546>
8. Davis L. Spongioblastoma multiforme of the brain. *Ann Surg*. 1928 Jan;87(1):8–14.
9. Pietschmann S, von Bueren AO, Henke G, Kerber MJ, Kortmann RD, Müller K. An individual patient data meta-analysis on characteristics, treatments and outcomes of the glioblastoma/gliosarcoma patients with central nervous system metastases reported in literature until 2013. *J Neurooncol*. 2014 Dec;120(3):451–457. <https://doi.org/10.1007/s11060-014-1596-x>
10. De Martino L, Picariello S, Russo C, Errico ME, Spennato P, Papa MR, et al. Extra-neural metastases in pediatric diffuse midline gliomas, H3 K27-altered: presentation of two cases and literature review. *Front Mol Neurosci*. 2023;16:1152430. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2023.1152430>
11. Stephens S, Tolleson G, Robertson T, Campbell R. Diffuse midline glioma metastasis to the peritoneal cavity via ventriculo-peritoneal shunt: Case report and review of literature. *J Clin Neurosci*. 2019 Sep;67:288–293. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2019.06.043>
12. Jimshelishvili S, Alshareef AT, Papadimitriou K, Bregy A, Shah AH, Graham RM, et al. Extracranial glioblastoma in transplant recipients. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2014 May;140(5):801–807. <https://doi.org/10.1007/s00432-014-1625-3>
13. Nauen DW, Li QK. Cytological diagnosis of metastatic glioblastoma in the pleural effusion of a lung transplant patient. *Diagn Cytopathol*. 2014 Jul;42(7):619–623. <https://doi.org/10.1002/dc.22993>
14. Yang G, Fang Y, Zhou M, Li W, Dong D, Chen J, et al. Case report: The effective response to pembrolizumab in combination with bevacizumab in the treatment of a recurrent glioblastoma with multiple extracranial metastases. *Front Oncol*. 2022;12:948933. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.948933>
15. Noch EK, Sait SF, Farooq S, Trippett TM, Miller AM. A case series of extraneural metastatic glioblastoma at Memorial Sloan Kettering Cancer Center. *Neurooncol Pract*. 2021 Jun;8(3):325–336. <https://doi.org/10.1093/nop/npaa083>
16. Undabeitia J, Castle M, Arrazola M, Pendleton C, Ruiz I, Úrculo E. Multiple extraneural metastasis of glioblastoma multiforme. *An Sist Sanit Navar*. 2015;38(1):157–161. <https://doi.org/10.23938/ASSN.0061>
17. Ким А. В., Хачатрян В. А., Самочерных К. А., Забродская Ю. М. Экстраневральное метастазирование глиобластомы. Вестник хирургии им. И. И. Грекова. 2007;166(6):70–74. EDN: ILHHLZ
18. Размологова О. Ю., Соколова Т. В. Редкий случай метастазирования глиобластомы в легкие. Архив патологии. 2013;75(4):34–36. EDN: RBLWDP
19. Жетписбаев Б. Б., Исаханова Б. А. Метастаз глиобластомы в легкое. Журнал Медицина. 2015;5(155):29–31. Доступно по: https://www.medzdrav.kz/images/magazine/medecine/2015/2015-5/M_05-15-01_29-31.pdf, Дата обращения: 19.08.2024.

Информация об авторах:

Регентова Ольга Сергеевна ✉ – к.м.н., заведующий отделением лучевой терапии детей с койками онкологии, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0219-7260>, SPIN: 9657-0598, AuthorID: 1011228

Пархоменко Роман Алексеевич – д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории лучевой терапии и комплексных методов лечения онкологических заболеваний, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация; профессор кафедры онкологии и рентгенодиагностики Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9249-9272>, SPIN: 9902-4244, AuthorID: 702112, Scopus Author ID: 6603021483

Щербенко Олег Ильич – д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории лучевой терапии и комплексных методов лечения онкологических заболеваний, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0786-5448>, SPIN: 9818-9276, AuthorID: 485883

Антоненко Федор Федорович – д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией лучевой терапии и комплексных методов лечения онкологических заболеваний, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5900-6755>, SPIN: 6582-8081, AuthorID: 261007, Scopus Author ID: 6602615840

Зелинская Наталья Ивановна – к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории лучевой терапии и комплексных методов лечения онкологических заболеваний, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-5380-2056>, SPIN: 4092-4845, AuthorID: 123005

Сидибэ Нелли – к.м.н., врач-радиотерапевт отделения лучевой терапии детей с койками онкологии, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5556-0166>, SPIN: 3660-6207, AuthorID: 1108540

Полушкин Павел Владимирович – к.м.н., врач-радиотерапевт отделения лучевой терапии детей с койками онкологии, научный сотрудник лаборатории лучевой терапии и комплексных методов лечения онкологических заболеваний, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6661-0280>, SPIN: 7600-7304, AuthorID: 1099115

Шевцов Андрей Игоревич – к.м.н., врач-радиотерапевт отделения лучевой терапии детей с койками онкологии, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4539-5187>, SPIN: 5605-6768, AuthorID: 996411

Близниченко Мария Алексеевна – клинический ординатор по специальности радиотерапия отделения лучевой терапии детей с койками онкологии, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-4300-5759>

Дейанова Валерия Андреевна – клинический ординатор по специальности радиотерапия отделения лучевой терапии детей с койками онкологии, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-1203-2195>

Солодкий Владимир Алексеевич – д.м.н., профессор, академик РАН, директор, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1641-6452>, SPIN: 9556-6556, AuthorID: 440543, ResearcherID: T-6803-2017, Scopus Author ID: 57193878871

Вклад авторов:

Регентова О. С. – разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, интерпретация результатов, окончательное утверждение публикуемой версии рукописи, написание текста рукописи;

Пархоменко Р. А. – разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи;

Щербенко О. И. – разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи;

Антоненко Ф. Ф. – обзор публикаций по теме статьи;

Зелинская Н. И. – обзор публикаций по теме статьи;

Сидибэ Н. – обзор публикаций по теме статьи, техническое редактирование;

Полушкин П. В. – обзор публикаций по теме статьи, техническое редактирование;

Шевцов А. И. – обзор публикаций по теме статьи;

Близниченко М. А. – обзор публикаций по теме статьи;

Дейанова В. А. – обзор публикаций по теме статьи;

Солодкий В. А. – разработка дизайна исследования, окончательное утверждение публикуемой версии рукописи.



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

