



ISSN: 2687-0533 Print
ISSN: 2686-9039 Online

РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ
**ЮЖНО-РОССИЙСКИЙ
ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ**

PEER-REVIEWED SCIENTIFIC AND PRACTICAL
**SOUTH RUSSIAN JOURNAL
OF CANCER**

Том 1, № 3, 2020
Vol. 1, № 3, 2020

www.cancersp.com

PEER-REVIEWED SCIENTIFIC AND PRACTICAL
**SOUTH RUSSIAN JOURNAL
OF CANCER**

РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ
**ЮЖНО-РОССИЙСКИЙ
ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ**

EDITOR-IN-CHIEF

Oleg I. Kit,
Corr. Member RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., Rostov-on-Don, Russia

DEPUTY CHIEF EDITOR

Aleksei Yu. Maksimov
Dr. Sci. (Med.), Prof., Rostov-on-Don, Russia

EXECUTIVE SECRETARY

Elena A. Dzhenkova
Dr. Sci. (Biol.), associate Prof., Rostov-on-Don, Russia

EDITORIAL BOARD

Irina A. Baldueva,
Dr. Sci. (Med.), Saint Petersburg, Russia
Lyubov Yu. Vladimirova,
Dr. Sci. (Med.), Prof., Rostov-on-don, Russia
Marina A. Engibaryan,
Dr. Sci. (Med.), Rostov-on-don, Russia
Elena Yu. Zlatnik,
Dr. Sci. (Med.), Prof., Rostov-on-don, Russia
Tatyana Yu. Semiglazova,
Dr. Sci. (Med.), Prof., Saint Petersburg, Russia
Aleksandr V. Snezhko,
Dr. Sci. (Med.), associate Prof., Rostov-on-don, Russia
Natalya V. Soldatkina,
Dr. Sci. (Med.), Rostov-on-don, Russia
Aleksandr V. Soldatov,
Dr. Sci. (Phys.-Math.), Prof., Rostov-on-don, Russia
Aleksandr G. Khitryan,
Dr. Sci. (Med.), Prof., Rostov-on-don, Russia
Tatyana P. Shkurat,
Dr. Sci. (Biol.), Prof., Rostov-on-don, Russia

Designer: **Sergei I. Khodosov**
Corrector: **Lyubov V. Elivanova**

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,
Russian Federation
E-mail: info@cancersp.com
Pfone: +7 903-547-04-62, +7 863-295-53-62
www.cancersp.com

Registration number:
PI No. FS 77-77100, 28 Oct. 2019.

Printed by "P-Center"
13 Akademika Koroljova, 129515 Moscow, Russia
Circulation of 50 copies, quarterly. Free price.

Submitted for publication 01.09.2020

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Кит О.И.,
чл.-корр. РАН, д.м.н., профессор, Ростов-на-Дону, Россия

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Максимов А.Ю.,
д.м.н., профессор, Ростов-на-Дону, Россия

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Дженкова Е.А.,
д.б.н., доцент, Ростов-на-Дону, Россия

РЕДКОЛЛЕГИЯ

Балдуева И.А.,
д.м.н., Санкт-Петербург, Россия
Владимирова Л.Ю.,
д.м.н., профессор, Ростов-на-Дону, Россия
Енгибарян М.А.,
д.м.н., Ростов-на-Дону, Россия
Златник Е.Ю.,
д.м.н., профессор, Ростов-на-Дону, Россия
Семиглазова Т.Ю.,
д.м.н., профессор, Санкт-Петербург, Россия
Снежко А.В.,
д.м.н., доцент, Ростов-на-Дону, Россия
Солдаткина Н.В.,
д.м.н., Ростов-на-Дону, Россия
Солдатов А.В.,
д.ф.-м.н., профессор, Ростов-на-Дону, Россия
Хитарьян А.Г.,
д.м.н., профессор, Ростов-на-Дону, Россия
Шкурят Т.П.,
д.б.н., профессор, Ростов-на-Дону, Россия

Дизайнер: **Ходосов С.И.**
Корректор: **Эливанова Л.В.**

Издатель и учредитель:
Автономная некоммерческая организация
«Перспективы онкологии» (АНО «Перспективы онкологии»)

Адрес редакции и издателя:
344037, Российская Федерация, Ростовская область,
г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63, литер Г, комната 1
E-mail: info@cancersp.com
Телефон: +7 903-547-04-62, +7 863-295-53-62
www.cancersp.com

Регистрационный номер:
ПИ № ФС 77 - 77100 от 28 октября 2019 г.

Отпечатано в типографии «П-Центр»
129515, Россия, Москва ул. Академика Королева, 13
Тираж 50 экз., ежеквартально. Цена свободная.

Подписано в печать 01.09.2020

ORIGINAL ARTICLE

Development of postcastration syndrome and corrective effect of xenon in exponential dose regimen in young patients with gynecological cancers
O.I.Kit, N.N.Popova, A.I.Shikhlyarova, E.M.Frantsiyants, T.I.Moiseenko, A.P.Menshenina, G.V.Zhukova, T.P.Protasova, Yu.Yu.Arapova 6

Use of skin-fascial flaps on perforating vessels in the surgical treatment of skin melanoma
Yu.V.Przhedetskiy, V.V.Pozdnyakova, N.A.Maximova, O.V.Khokhlova, N.A.Zakharova, M.G.Ilchenko, V.Yu.Przhedetskaya 18

Morphological and immunophenotypic features of the monoclonal population of B-lymphocytes in chronic lymphocytic leukemia
N.K.Guskova, O.N.Selyutina, I.A.Novikova, A.Yu.Maksimov, A.S.Nozdricheva, S.V.Abakumova 27

REVIEW

Primary tumor cell cultures: current methods of obtaining and subcultivation
I.V.Mezhevova, A.O.Sitkovskaya, O.I.Kit 36

CLINICAL CASE REPORTS

Rare forms of non-Hodgkin lymphomas: experience in treatment for primary bone lymphomas
I.B.Lysenko, A.A.Barashev, T.O.Lapteva, N.V.Nikolaeva, E.A.Kapuz, O.N.Shatokhina, T.F.Pushkareva 50

Bone flap resorption after craniotomy in elective neurosurgery (case study)
E.E.Rostorguev, N.S.Kuznetsova, G.N.Yadryshnikova 60

Bevacizumab in maintenance therapy for ovarian cancer patients
L.Yu.Vladimirova, A.E.Storozhakova, E.A.Kalabanova, E.V.Verenikina, S.N.Kabanov, Ya.V.Svetitskaya, N.Yu.Samaneva, N.M.Tikhanovskaya, K.A.Novoselova, O.G.Selezneva, A.V.Tishina 67

ОРИГИНАЛЬНЫЕ
СТАТЬИ

- Развитие посткастрационного синдрома и корригирующее действие ксенона в экспоненциальном дозовом режиме у пациенток молодого возраста с онкопатологией репродуктивных органов
О.И.Кит, Н.Н.Попова, А.И.Шихлярова, Е.М.Франциянц, Т.И.Моисеенко, А.П.Меньшенина, Г.В.Жукова, Т.П.Протасова, Ю.Ю.Арапова..... 6
- Использование кожно-фасциальных лоскутов на перфорантных сосудах в хирургическом лечении меланомы кожи
Ю.В.Пржедецкий, В.В.Позднякова, Н.А.Максимова, О.В.Хохлова, Н.А.Захарова, М.Г.Ильченко, В.Ю.Пржедецкая..... 18
- Морфологические и иммунофенотипические особенности моноклональной популяции В-лимфоцитов при хроническом лимфолейкозе
Н.К.Гуськова, О.Н.Селютина, И.А.Новикова, А.Ю.Максимов, А.С.Ноздричева, С.В.Абакумова 27

ОБЗОРЫ

- Первичные культуры опухолевых клеток: современные методы получения и поддержания *in vitro*
И.В.Межевова, А.О.Ситковская, О.И.Кит 36

КЛИНИЧЕСКИЕ
НАБЛЮДЕНИЯ

- Редкие формы неходжкинских лимфом: опыт терапии первичных лимфом костей
И.Б.Лысенко, А.А.Барашев, Т.О.Лаптева, Н.В.Николаева, Е.А.Капуза, О.Н.Шатохина, Т.Ф.Пушкарева..... 50
- Резорбция костного лоскута после костнопластической краниотомии в плановой нейрохирургии (случай из практики)
Э.Е.Росторгуев, Н.С.Кузнецова, Г.Н.Ядрышников 60
- Опыт применения бевацизумаба в поддерживающей терапии у больных раком яичников
Л.Ю.Владимирова, А.Э.Сторожакова, Е.А.Калабанова, Е.В.Вереникина, С.Н.Кабанов, Я.В.Светицкая, Н.Ю.Саманева, Н.М.Тихановская, К.А.Новоселова, О.Г.Селезнева, А.В.Тишина..... 67

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

РАЗВИТИЕ ПОСТКАСТРАЦИОННОГО СИНДРОМА И КОРРИГИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ КСЕНОНА В ЭКСПОНЕНЦИАЛЬНОМ ДОЗОВОМ РЕЖИМЕ У ПАЦИЕНТОК МОЛОДОГО ВОЗРАСТА С ОНКОПАТОЛОГИЕЙ РЕПРОДУКТИВНЫХ ОРГАНОВ

О.И.Кит, Н.Н.Попова, А.И.Шихлярова*, Е.М.Франциянц, Т.И.Моисеенко, А.П.Меньшенина, Г.В.Жукова, Т.П.Протасова, Ю.Ю.Арапова

ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России,
344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Исследовать возможность оптимизации лечения больных РМЖ и РШМ при помощи низкодозной ксенонотерапии.

Пациенты и методы. В исследование включено 156 онкологических больных раком шейки матки (РШМ) pT1B2N0M0 и раком молочной железы (РМЖ) pT2N1M0 репродуктивного возраста (29–45 лет) после радикального лечения, включая вынужденную хирургическую кастрацию при гормонположительном РМЖ с сопутствующей гинекологической патологией. С момента формирования патологических синдромов применяли 1 курс (5 процедур) ингаляционной низкодозной ксенонотерапии (КсТ), включающей алгоритм расчетных доз ксенона и экспозиции воздействия в соответствии с экспоненциальной закономерностью снижения концентрации и увеличения экспозиции с учетом персонализированного подхода. Наряду с общеклиническими и лабораторными исследованиями использовали международные шкалы оценки степени тяжести состояния по менопаузальному индексу (ММИ) Kupperman, ESAS, качества жизни (MOS-SF-36), в модификации Российского Межнационального Центра, боли (ВАШ); идентифицировали тип общих адаптационных реакций по Л.Х.Гаркави.

Результаты. После проведения КсТ были установлены важные преимущества нового метода, связанные с быстрым регрессом патологической психосоматической симптоматики. Значительно снизились показатели ММИ ($p < 0,05$), 96,8% пациенток отметили полное купирование болевых ощущений при нагрузке, достоверно снизились проявления нейровегетативных нарушений ($p = 0,02 - 0,04$), увеличилось соотношение антистрессорных реакций к стрессу, что совпадало с данными повышения качества жизни.

Заключение. Высокая эффективность используемой технологии демонстрирует возможность предупреждения развития хирургической менопаузы с клиническим проявлением посткастрационного синдрома для улучшения качества жизни и социальной реабилитации пациенток молодого возраста с онкопатологией репродуктивных органов.

Ключевые слова:

рак шейки матки, рак молочной железы, посткастрационный синдром, ксенонотерапия, экспоненциальный режим дозирования, адаптационные реакции

Для корреспонденции:

Шихлярова Алла Ивановна – д.б.н., профессор, старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России

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

E-mail: shikhliarova.a@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2943-7655>

SPIN: 6271-0717, AuthorID: 482103

Scopus Author ID: 6507723229

Информация о финансировании: работа проведена при поддержке ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования:

Кит О.И., Попова Н.Н., Шихлярова А.И., Франциянц Е.М., Моисеенко Т.И., Меньшенина А.П., Жукова Г.В., Протасова Т.П., Арапова Ю.Ю. Развитие посткастрационного синдрома и корригирующее действие ксенона в экспоненциальном дозовом режиме у пациенток молодого возраста с онкопатологией репродуктивных органов. Южно-российский онкологический журнал. 2020; 1(3): 6-17. <https://doi.org/10.37748/2687-0533-2020-1-3-1>

Получено 30.12.2019, Рецензия (1) 20.03.2020, Рецензия (2) 01.07.2020, Принята к печати 01.09.2020

DEVELOPMENT OF POSTCASTRATION SYNDROME AND CORRECTIVE EFFECT OF XENON IN EXPONENTIAL DOSE REGIMEN IN YOUNG PATIENTS WITH GYNECOLOGICAL CANCERS

O.I.Kit, N.N.Popova, A.I.Shikhlyarova*, E.M.Frantsiyants, T.I.Moiseenko, A.P.Menshenina, G.V.Zhukova, T.P.Protasova, Yu.Yu.Arapova

National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia,
63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

ABSTRACT

Purpose of the study. Investigation of possible optimization of treatment in patients with breast cancer and cervical cancer with low-dose xenon therapy.

Patients and methods. The study included 156 patients with pT1B2N0M0 cervical cancer (CC) and pT2N1M0 breast cancer (BC) of the reproductive age (29–45 years) after radical treatment, including forced surgical castration in hormone-positive breast cancer with concomitant gynecological pathology. Since the formation of pathological syndromes, 1 cycle (5 sessions) of low-dose xenon inhalation therapy (XT) was performed, with an algorithm for xenon dose calculation and exposure according to the exponential pattern of decreasing concentration and increasing exposure, with an individual approach. Together with general clinical and laboratory examinations, we used international scales for assessing the severity of the patient condition by the Kupperman menopausal index (MMI), ESAS, quality of life (MOS-SF-36), in a modification of the Russian International Center, pain (VAS); the types of general adaptive reactions were identified by the method of L.Kh. Garkavi.

Results. Important advantages of a new method associated with a rapid regression of pathological psychosomatic symptoms were revealed after XT. MMI values ($p < 0.05$) decreased, 96.8% of patients reported no pain at all on activity, manifestations of neurovegetative disorders significantly decreased ($p = 0.02–0.04$), and the coefficient of antistress reactions to stress increased, which was congruent with the data on improving the quality of life.

Conclusion. High efficiency of the technology demonstrated possible prevention of surgical menopause development and clinical manifestations of postcastration syndrome in order to improve the quality of life and social rehabilitation of young patients with gynecological cancers.

Keywords:

cervical cancer, breast cancer, postcastration syndrome, xenon therapy, exponential dose regimen, adaptive reactions

For correspondence:

Alla I. Shikhlyarova – Dr. Sci. (Biol.), professor, senior researcher of the laboratory for studying the pathogenesis of malignant tumors National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia

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

E-mail: shikhlyarova.a@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2943-7655>

SPIN: 6271-0717, AuthorID: 482103

Scopus Author ID: 6507723229

Information about funding: the work was carried out with the support of the National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia.

Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

For citation:

Kit O.I., Popova N.N., Shikhlyarova A.I., Frantsiyants E.M., Moiseenko T.I., Menshenina A.P., Goncharova A.S., Zhukova G.V., Protasova T.P., Arapova Yu.Yu. Development of postcastration syndrome and corrective effect of xenon in exponential dose regimen in young patients with gynecological cancers. South Russian Journal of Cancer. 2020; 1(3): 6-17. <https://doi.org/10.37748/2687-0533-2020-1-3-1>

Received 30.12.2019, Review (1) 20.03.2020, Review (2) 01.07.2020, Accepted 01.09.2020

В современной структуре онкологических заболеваний у женщин около 40% занимают опухоли репродуктивной системы [1, 2], среди которых безусловным лидером является рак молочной железы (РМЖ) – 20,9%, второе место – рак шейки матки (РШМ) с частотой встречаемости 5,9% [3, 4]. Эти проблемы приобретают особую актуальность в связи с увеличением среди онкологических больных числа молодых женщин репродуктивного возраста, оказавшихся после хирургической кастрации в эпицентре собственных системных нарушений нейроэндокринной регуляции, инверсии процессов метаболизма и психологического статуса [5–8].

Такие события, во-первых, связаны с канцеролитическими влияниями опухоли на состояние внутренней среды. Во-вторых, после радикального лечения опухоли и выключения функции яичников происходит смена триггерного механизма. А именно, ведущим патогенетическим фактором становится гипоестрогения, которая и формирует не менее сложную метаболическую картину посткастрационного синдрома задолго до наступления естественного менопаузального периода. Частота встречаемости данного симптомокомплекса составляет от 50 до 100% среди прооперированных женщин [9]. Для женщин молодого возраста удаление яичников является необратимой утратой репродуктивной функции и, в отличие от естественного климактерия, это всегда стресс, когда организм ни физиологически, ни психологически не подготовлен к наступлению преждевременной менопаузы [10, 11]. Иными словами, в отличие от естественных процессов угасания репродуктивной функции, одномоментное тотальное выключение функции яичников сопровождается остро текущей нейро-гормональной и метаболической перестройкой организма [12]. Сценарий течения рака молочной железы, имеющего катастрофическое ускорение распространения среди женщин молодого возраста, также развивается, затрагивая важнейшие системные регуляторные и исполнительные механизмы нейро-гормонального статуса [13, 14]. Это требует постоянного совершенствования и развития новых подходов лечения, включая использование технологий восстановительной медицины [15–19]. В качестве альтернативной коррекции эстрогендефицитных состояний используется заместительная терапия натуральными эстрогенами, при этом

нивелируются нейровегетативные проявления, но риск развития сердечно-сосудистых и обменно-эндокринных нарушений сохраняется [20, 21].

Существующие лечебно-реабилитационные программы с использованием методик плазмафереза, релаксации, аутотренинга, фитотерапии, ЛФК, массажа, а также назначением противотревожных средств из группы высокопотенциальных транквилизаторов бензодиазепинового ряда, в том числе трициклических и тетрациклических антидепрессантов и нейролептиков, не всегда имеют положительный результат в достижении полной нормализации нарушенного нейровегетативного и психоэмоционального статуса.

Учитывая проблему выбора адекватной сопроводительной терапии для купирования комплекса побочных эффектов, мы обратили внимание на медицинский опыт использования инертного газа – ксенона, который относят к высокоперспективным факторам коррекции функциональных нарушений при различной патологии, в том числе и онкологических заболеваний. Известно, что ксенон не обладает тератогенными и мутагенными свойствами, а его клиническое влияние характеризуется ноотропным, антидепрессантным, антигипоксическим, иммуностимулирующим, противовоспалительным эффектом [22–24]. Причем, в реабилитационный период рекомендуется применять субнаркозные дозы этого биологически активного фактора.

Казалось бы, что, учитывая антистрессорное влияние ксенона, не требуется специального тестирования индивидуальной чувствительности и подбора доз. Однако такой стандартизованный подход для пациенток с гормонпозитивным РМЖ и РШМ на раннем этапе после хирургического лечения оказывается не вполне подходящим. Это связано с развитием неадекватного ответа на фоне формирования постмастэктомического и постовариэктомического синдромов или их симультанного течения, что и отмечалось на практике в виде высокой реактивности и бурных вегетативных проявлений после субнаркозных доз ксенонотерапии, отказом от медицинской помощи.

В силу этих обстоятельств для создания адекватного дозового режима нами была взята за основу теория общих неспецифических адаптационных реакций организма, содержащая представления о многоуровневой периодической системе

реагирования, принципах и технологиях активационной терапии, как научно-обоснованного подхода к управлению процессами повышения резистентности организма [25].

Цель исследования: исследовать возможность оптимизации лечения больных РМЖ и РШМ при помощи низкодозной ксенонотерапии.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Критериями включения при формировании групп исследования были репродуктивный возраст (до 45 лет), диагноз – местнораспространенный РШМ и РМЖ, прохождение комплексного лечения в ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ в 2016–2018 гг., этап хирургического лечения. Все протоколы исследования были подготовлены в соответствии с этическими стандартами Декларации Хельсинки (1964, в редакции 2013 г.) и одобрены этическим комитетом при ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ.

В первую основную группу были включены 60 женщин с местнораспространенным РШМ, госпитализированные в онкогинекологическое отделение ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ для комплексного лечения, включающего модифицированную экстирпацию матки с придатками (классификации по River III), у которых в раннем послеоперационном периоде развились признаки посткастрационного синдрома. Степень распространённости процесса по классификации TNM соответствовала $pT_{1b}N_0M_0$ ($n=14$), $pT_{2a}N_0M_0$, по данным гистологического анализа – плоскоклеточный рак различной степени дифференцировки. Вторая основная группа состояла из 60 пациенток репродуктивного возраста, госпитализированных в отделение опухолей кожи, мягких тканей и молочной железы № 1 ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ с целью выполнения оперативного лечения в объеме радикальной мастэктомии по Маддену. Степень распространённости процесса по классификации TNM соответствовала T2N0M0 st II, данные гистологического анализа – инфильтрирующая карцинома. В третью основную группу были включены 36 пациенток с гормон-позитивными (люминальными) подтипами РМЖ и такими сопутствующими генитальными патологиями, как миома матки (23 человека, 64,3%), эндометриоз (9 человек, 25,1%), киста яичников (4 человека, 11,2%). Ранее этим пациенткам было проведено комбинированное лечение (операция в объеме мастэктомии по Маддену

и гормональная терапия), а далее – хирургическое лечение в объеме лапароскопической экстирпации матки с придатками. Проведению операции предшествовало получение от пациенток согласия на завершение фертильной функции. Степень распространённости процесса по классификации TNM соответствовала $pT2N3M0$ st III, по данным гистологического анализа была диагностирована инфильтрирующая карцинома.

Специально для данного исследования на основании принципов активационной терапии нами был разработан новый экспоненциальный дозовый алгоритм ингаляционной терапии ксеноном, направленный на моделирование гармоничного адаптивного ответа организма путем плавного пошагового увеличения малых доз ксенона по экспоненте с коэффициентом 0,7 и реципрокного уменьшения времени проведения каждой процедуры. Это исключало возможность передозировки и обеспечивало мягкое, но продуктивное восстановление показателей функционального состояния онкологических больных после хирургической кастрации по поводу местнораспространенного РШМ и гормонпозитивного РМЖ. В работе использовали ксенон медицинский – КсеМед, лекарственная форма – газ сжатый, производство ООО «АКЕЛА-Н», Россия, Московская область, г. Химки, № 99/363/4, регистрационное удостоверение ЛС-000121–240810. Инструкция по применению ксенона (Фармакопейная статья 42–2891–97 от 8. 10. 1999 г. и Фармакопейная статья предприятия № 42–0523–5109–04. Класс опасности – 4 по ГОСТ 12.1007). Приказ МЗ РФ № 363 от 10.10.1999 г. Применение ксенона в медицинской практике. Технология включала выполнение 5 процедур ксенонотерапии (КсТ), начиная с третьего дня после хирургической кастрации, проводимой через день в утренние часы. В течение первой процедуры дозовый алгоритм начинался с подачи концентрации ксенона 12–14% в объеме вдыхаемой ксенон-кислородной смеси в течение 20 минут. Далее, на последующих процедурах концентрация ксенона и величина экспозиции реципрокно изменялись: 2-я процедура – 14–16%, 17 мин., 3-я – 16–18%, 15 мин., 4-я – 18–20%, 12 мин., 5-я – 20–22%, 10 мин.. Иными словами, экспоненциальный режим постепенного увеличения малых доз ксенона сопровождался обратным режимом – экспоненциальным снижением экспозиции.

Критериями эффективности методики считались клинические проявления в виде поверхностного сна, спокойного дыхания и снижения частоты сердечных сокращений относительно исходных данных. Степень тяжести посткастрационного симптомокомплекса оценивали по результатам модифицированного менопаузального индекса (ММИ) Kurperman (1959), в модификации Е.В. Ува-

ровой (1983), оцениваемого в баллах [26]. На этапах лечения проводили идентификацию различных типов адаптационных реакций (сигнальные критерии морфологического состава крови) по Гаркави.

Определение адекватности обезболивания проводили по субъективным показателям опросников с оценкой степени интенсивности боли по

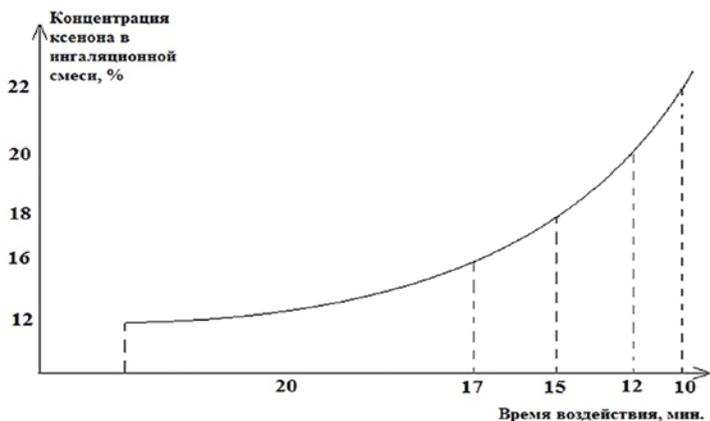


Рис. 1. Расчетная экспоненциальная кривая дозового алгоритма ксенотерапии, отражающая увеличение концентрации ксенона в ксенон-кислородной смеси (по вертикали), сопряженного с уменьшением экспозиции воздействия (по горизонтали).

Таблица 1. Структура клинических проявлений посткастрационного синдрома у больных РШМ, в зависимости от проведенного лечения с применением ксенотерапии и без таковой, %

Показатели	После операции, n=60	Основная группа с КсТ, n=32	Контрольная группа, без КсТ, n=28
	%	%	%
Повышение АД	62,7	56,2	71,4
Головная боль	56,1	56,2	71,4
Головокружение	56,1	50,0	64,2
Потливость	72,6	37,5*	78,5
Приливы жара	59,4	43,7*	78,5
Аритмия	33,9	37,5	35,7
Нарушение сна	59,4	25,0*	100,0
Апатия	100,0	18,7*	85,6
Повышенная утомляемость	72,6	12,5*	78,5
Снижение работоспособности	56,1	12,5*	85,6
Тревожность	66,6	25,0*	71,4
Снижение аппетита	13,2	12,5	14,2
Психоэмоциональные жалобы	85,8	18,7*	78,5
Боли в мышцах	49,5	12,5	21,4
Нарушение углеводного обмена	13,2	12,5	14,2

Примечание: * – статистически значимо отличается от значений в контрольной группе, p<0,05

графической визуально-аналоговой шкале (ВАШ): 0 баллов – нет боли, 10 баллов – максимальная боль. Пациенты определяли свои болевые ощущения через 6 часов, 24 часа и на третьи сутки после операции [27]. Послеоперационная анальгезия считалась удовлетворительной при уровне интенсивности боли ВАШ не выше 4 баллов. Полученные данные обрабатывали с помощью стандартных компьютерных методик (Statistica, 8. MicrosoftExcel). При сравнении групп использовали параметрический Т-критерий Стьюдента и непараметрический U-критерий Манна-Уитни, критический уровень значимости p принимали равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Динамика основных ранневременных менопаузальных нейровегетативных и эмоциональных расстройств у больных с диагнозом РШМ, обусловленных развитием посткастрационного

синдрома, и состояние симптоматики после стандартного лечения и после применения КсТ представлены в таблице 1.

Анализ клинических данных показал, что в раннем послеоперационном периоде для всех пациенток было характерно преобладание психоэмоциональных нарушений: апатия в 100%, психоэмоциональные жалобы у 85,8%, повышенная утомляемость у 72,6%, тревожность у 66,6%, нарушение сна у 59,4%. Нейровегетативный симптомокомплекс так же включал довольно выраженные проявления: повышенное артериальное давление, потливость и приливы жара наблюдались у больных в 65–72%, головная боль и головокружение – в 56,3%, что соответствовало общеизвестным литературным источникам.

Сравнительный анализ групп после проведения КсТ показал преимущество нового метода, связанного с быстрым регрессом патологической симптоматики: такие вегетативные проявления, как потливость и приливы жара, снизились в 2 раза; тревожность – в 2,8 раза; нарушение сна –

Таблица 2. Структура клинических проявлений посткастрационного синдрома у пациенток с диагнозом РМЖ и вынужденной кастрацией с применением ксенотерапии и без таковой, %

Показатели	После операции, $n=36$	Основная группа КсТ, $n=19$	Контрольная группа, без КсТ, $n=17$
	%	%	%
Повышение АД	61,6	36,8*	75,4
Головная боль	78,4	36,8*	52,2
Головокружение	78,4	26,3*	52,2
Потливость	67,2	26,3*	75,4
Приливы жара	67,2	26,3*	75,4
Аритмия	42,0	13,2*	29,0
Нарушение сна	100,0	36,8*	87,0
Апатия	86,8	26,3*	75,4
Повышенная утомляемость	25,2	13,2*	75,4
Снижение работоспособности	100,0*	36,8*	58,8
Тревожность	95,2*	26,3*	58,8
Снижение аппетита	25,2	36,8	34,8
Психоэмоциональные жалобы	100,0	26,3*	87,0
Боли в мышцах	42,0	26,3	34,8
Нарушение углеводного обмена	25,2	26,3	29,0

Примечание: * – статистически значимо отличается от значений в контрольной группе, $p<0,05$

в 4 раза; психоэмоциональные жалобы снизились в 4,2 раза; снижение работоспособности в 6,8 раз; повышенный уровень утомляемости уменьшился в 6,2 раза.

Что касается пациенток с гормонположительными (люминальными) подтипами РМЖ, то многовариантность и тяжесть клинической симптоматики посткастрационных изменений после вынужденной хирургической кастрации малоизучены и недостаточно отражены в литературных источниках. В осуществленном нами исследовании был проведен анализ наиболее активно проявляемых клинических признаков посткастрационного синдрома и их редукции с помощью использования Кс Т. Эти данные представлены в таблице 2.

Анализ результатов показал, что использование персонализированной технологии экспоненциального программирования низкодозной ксенонотерапии у пациенток с гормонположительным РМЖ после тотального удаления яичников значительно отличается от результатов пациенток с аналогичным диагнозом и лечением без включения ксенонотерапии. Это нашло отражение в положительной динамике и регрессе патологической симптоматики со стороны нейровегетативных нарушений. Прежде всего удалось нормализовать уровень артериального давления; снизить частоту

эпизодов аритмии, головной боли и головокружения в 2 раза; вегетативных кризов – в 3 раза; снизить частоту тревожности в 2,5 раза; нарушения сна – в 2,3 раза; апатии – в 3 раза; психоэмоциональных жалоб – в 3,5 раза; повышенной утомляемости – в 6 раз.

Балловый коэффициент позволил определить частоту выявления и степень тяжести ММИ у пациенток, перенесших вынужденную кастрацию, данные о которых отображены в таблице 3.

Как видно из таблицы 3, уровень ММИ, характеризующий легкую степень психоэмоциональных и соматических нарушений у пациенток с диагнозом РМЖ после вынужденной кастрации, встречался с наименьшей частотой и уровнем балльной оценки по сравнению с таковыми у больных с ММИ средней и тяжелой степени. Данные свидетельствуют о том, что в этот период у подавляющего большинства больных доминировала средняя и, особенно, тяжелая степень ММИ. Иная ситуация проявилась при сопоставлении показателей, полученных после КсТ с группой без применения ксенона. Было отмечено, что в основной группе достоверно снизилась частота проявления ММИ средней и тяжелой степени (в 4,8 и 2,4 раза соответственно) и заметно уменьшился уровень балльной оценки. Этот коэффициент четко про-

Таблица 3. Определение степени тяжести посткастрационного синдрома у пациенток с диагнозом РМЖ и вынужденной кастрацией с применением ксенонотерапии

степень тяжести ММИ	после операции, n=36		основная группа, КсТ, n=19		контрольная группа, без КсТ, n=17	
	%	баллы	%	баллы	%	баллы
легкая степень	5,6%	22,6±3,5	73,6%	19,3±2,8	11,8%	24,4±2,9
средняя степень	19,6%	41,2±3,1	12,2%	37,2±2,0*	58,5%	44,2±3,4
тяжелая степень	72,8%	61,3±4,2	12,2%	54±3,6	29,5%	66,1±6,1

Примечание: * – статистически значимо отличается от значений в контрольной группе, p<0,05

Таблица 4. Купирование болевого синдрома в послеоперационном периоде у больных РШМ при проведении ксенонотерапии

Показатели	после операции, n=60	основная группа, КсТ, n=32	контрольная группа, без КсТ, n=28
	%	%	%
Боль в покое	59,2	12,6*	31,5
Боль при незначительной нагрузке	70,4	19,2*	45,5

Примечание: * – статистически значимо отличается от значений в контрольной группе, p<0,05

демонстрировал результативность используемой технологии ксенонотерапии в условиях симуль-танного течения постмастэктомического и посткастрационного синдрома у молодых пациенток с диагнозом гормонпозитивный РМЖ.

Нами учитывалось, что в комплексе комбинированного лечения онкологических больных хирургический компонент является одним из основных. Послеоперационная боль – неизбежный симптом прооперированного больного, обусловленный хирургическим повреждением тканей, наличием дренажей и, в ряде случаев, развитием послеоперационных осложнений. Однако, послеоперационная боль обычно недооценивается и может приводить к кардиореспираторным, тромбоэмболическим и другим осложнениям с ухудшением качества жизни [28]. Онкологические пациенты более других нуждаются в защите от операционной агрессии, связанной с радикализмом, удалением регионарных лимфатических коллекторов, с актуализацией вопроса об эффективных методах купирования боли в раннем послеоперационном периоде. Для оценки выраженности субъективных проявлений болевого синдрома оценивали интенсивность боли в покое и при умеренной физической нагрузке на 3-и и 9-е сутки после операции. В основной группе больных предлагалось определить свои болевые ощущения до и после проведения сеанса терапии ксеноном.

На примере определения степени выраженности болевого синдрома у больных с диагнозом РШМ было установлено, что на 3-и сутки после оперативного вмешательства, до начала проведения ксенонотерапии, у всех исследованных больных средний уровень боли составил 3 балла (диапазон 2–4). При этом 59,2% пациенток зафиксировали боль в области послеоперационной раны в покое и 70,4% больных – боль при незначительной нагрузке (при перемещении в кровати).

По завершении курса ксенонотерапии жалобы на болевые ощущения предъявляли не более 12,6% пациенток с диагнозом РШМ, тогда как в контрольной группе относительное число таких пациенток составило 44,8% (табл. 4).

При анализе результатов анальгезирующего действия ксенона у больных с люминальными подтипами РМЖ в раннем посткастрационном периоде отмечено, что уже после первой процедуры ксеноном практически все пациентки (96,8%) отметили полное купирование болевой симпто-

матики в покое и значительное снижение болевых ощущений при нагрузке. Выраженный обезболивающий эффект сохранялся в течение 10–12 часов. Также обращает на себя внимание факт купирования мигренозной боли в 4-х случаях, без использования дополнительных медикаментов, даже после однократной процедуры ксенон–кислородной смеси.

Для определения адаптационного статуса мы использовали алгоритм, который включал, во-первых, индивидуальную оценку типа АР на разных этапах исследования и формирование общегрупповой структуры АР, во-вторых, вычисление количественной доли и формирование кластера каждой реакции в группе и, наконец, расчет коэффициента соотношения суммарного кластера антистрессорных реакций к таковому для стресса ($K=AC/C$). Фактически, данный коэффициент представлял относительный цифровой эквивалент доминирующего адаптивного состояния и позволял объективизировать эффективность используемой ксенонотерапии.

При изучении структуры АР в группе пациенток с РШМ в раннем послеоперационном периоде были отмечены глубокие изменения реактивности организма патологического характера. У подавляющего большинства больных была идентифицирована общая неспецифическая реакция стресс в острой форме. Частота выявления этой реакции возросла более чем в 2 раза относительно фона (до операции). Напротив, частота развития интегральной реакции спокойной активации физиологического типа сократилась практически в 4 раза, а повышенная активация не была выявлена ни в одном случае. На протяжении восстановительного послеоперационного периода при стандартном режиме сопроводительной терапии ситуация кардинально не менялась, а именно превалировала реакция стресс, которая приобретала хроническую форму.

Применение программированных режимов низкодозной ксенонотерапии в раннем послеоперационном периоде у пациенток с РШМ способствовало формированию структуры АР. Доминирующим звеном стали реакции антистрессорного типа, частота выявления которых приближалась к 80%. Из них преобладающим типом была реакция тренировки, характеризующаяся выраженностью анаболических процессов, развитием охранительного торможения в ЦНС, функциональной активностью органов эндокринной

и тимико-лимфатической системы в пределах нижней половины нормы, плавным повышением неспецифической, в том числе противоопухолевой, резистентности. В интерпретации Л.Х.Гаркави, М.А.Уколовой, Е.Б.Квакиной, нормотип этой реакции характеризуется повышением противовоспалительного потенциала, что имеет большое значение для ускорения процессов заживления и восстановления защитных систем.

Говоря об изменении интегрального показателя адапционного статуса, представленного $K=AC/C$, можно видеть, что его исходные значения снизились в 8,7 раза после оперативного вмешательства, что свидетельствовало о закономерном сдвиге соотношения в сторону патологического типа АР – стресса. В период восстановительной терапии без применения ксенона величина $K=AC/C$ возросла всего в 1,6 раза относительно предыдущего уровня. В отличие от этого, динамика соотношения АР/С существенно возросла после применения программированных режимов низкодозной ксенотерапии, превысив значения К после операции в 17,5 раз. Данный показатель продемонстрировал высокую значимость биотропного влияния ксенона для регуляции адапционного статуса организма и, следовательно, возможности регресса посткастрационного синдрома у женщин репродуктивного возраста после радикальных онкогинекологических операций. Данные изменения соотношения АР на этапах лечения больных РШМ могут быть проиллюстрированы графической кривой (непрерывная линия), отражающей ход

адаптивных процессов в результате индивидуализированного подхода с помощью разработанных режимов малых доз ксенона (рис. 2).

Для сравнения нами был проведен анализ структуры АР у больных РМЖ с формированием постмастэктомического синдрома, комплексное лечение которых включало радикальную операцию на молочной железе. Важный момент в рассматриваемой группе больных с РМЖ представляло сравнение структуры АР через 9 дней после операции, когда восстановительный период проходил без применения низкодозной ксенотерапии. Судя по полученным данным в группе больных без применения ксенона не отмечено ни одного случая хронической формы стресса, при этом полностью восстановилась структура антистрессорных реакций, близкая к исходной. Отличия были в том, что в исходном состоянии доминировала реакция повышенной активации, а в последующем восстановительном периоде она развивалась в 1,4 раза меньшем числе случаев. При этом наибольший кластер составляла реакция тренировки, которая представляла собой симптомокомплекс, который приводит не к истощению, а к накоплению резервов с небольшими энергетическими тратами и умеренной функциональной активности регулирующих систем, деятельность которых сбалансирована.

При изучении структуры АР у больных РМЖ с формированием постмастэктомического синдрома, после проведения низкодозной ксенотерапии ситуация была практически идентичной.

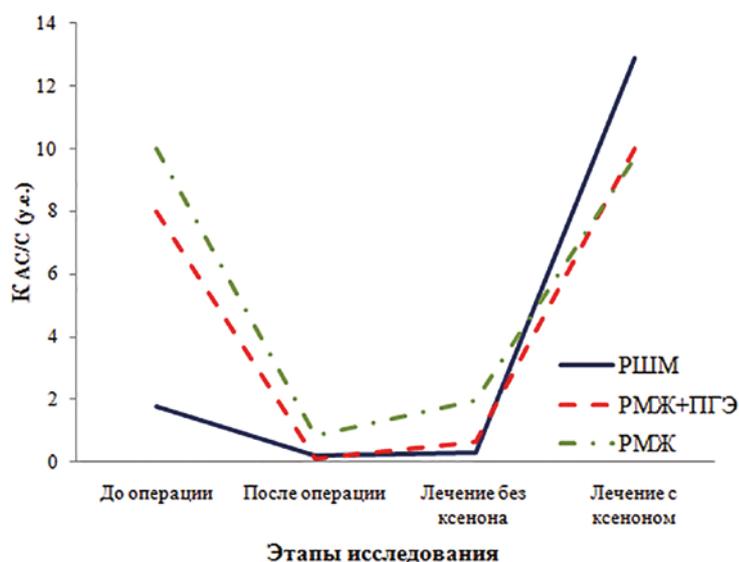


Рис. 2. Динамика соотношения антистрессорных реакций и стресса у молодых больных с онкопатологией репродуктивных органов при развитии посткастрационного синдрома и проведения ксенотерапии.

Структура АР состояла только из кластеров антистрессорных реакций с двукратным превышением частоты развития реакции тренировки над спокойной и повышенной активацией, представленность каждой из которых была одинаковой. В данном случае представлялось уместным сравнение уровня значений $K=AC/C$ при использовании ксенонотерапии и без нее при РМЖ, которое показывало одинаково устойчивые показатели доминирования антистрессорных реакций. Именно эта параллель приводила к выводу об отсутствии необходимости включения данной технологии реабилитации и восстановительной терапии у данной группы пациенток.

Напротив, на фоне этих результатов с РМЖ наглядно проявлялась ситуация, которая указывала на обязательное включение ксенонотерапии при гормонпозитивных подтипах РМЖ, когда хирургическое лечение не ограничивается только мастэктомией, но при наличии выраженной патологии гениталий, также сопровождается хирургической кастрацией. Так, при рассмотрении соотношения AC/C в период по истечении 9 дней после удаления яичников у больных РМЖ без применения ксенона величина $K=AC/C$ была меньше, чем исходная в 12 раз, хотя и превышала послеоперационный уровень значений (рис. 2).

В такой же период времени после окончания применения разработанного программированного режима низкодозной ксенонотерапии после хирургической кастрации была продемонстрирована возможность достижения максимально высокого $K=AC/C$, превышающего таковой без использования ксенона в 15,2 раза. Именно это кардинальное отличие подчеркивало необходимость эффективного использования такого биологически активного фактора, как ксенон, оказывающего регуляторное воздействие на интегральные адаптивные механизмы организма как целого.

Следует отметить, что включение механизмов, лимитирующих или полностью подавляющих развитие стресса под влиянием адекватной функциональной нагрузки, затрагивает прежде всего высшие регуляторные центры ЦНС, в частности, гипоталамо-гипофизарную регуляцию щитовидной и половых желез, коры надпочечников, меж-

системных иммунно-гормональных отношений, процессов метаболизма, пролиферации, апоптоза. Иными словами, малая пусковая причина, роль которой в данном случае выполняет ксенон, способна обеспечить запуск каскада сложных функциональных преобразований на уровне регуляторных и исполнительных систем организма, способствуя поддержанию структуры физиологических реакций через процессы самоорганизации. Благодаря возможности развития различных дискретных состояний организм, как сложная открытая нелинейная система, совершает фазовые переходы в наиболее выгодное в данный момент состояние. При стрессорной реакции осуществляется защита путем повреждения и больших энергозатрат, а при физиологических нагрузках такой ответ биологически нецелесообразен, и даже малое воздействие (ксенон) на фоне действия большого (противоопухолевое лечение) вызовет адекватную ОНАР физиологического типа другого уровня реактивности, что и было нами подтверждено. Однако, необходимо учесть, что тяжесть стрессорного воздействия будет различна при проведении хирургического лечения РМЖ с последующей хирургической кастрацией или ограниченная только радикальной операцией на молочной железе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведение исследований позволило обосновать эффективность использования персонализированного подхода ксенонотерапии путем разработки программируемого экспоненциального алгоритма дозирования ксенон-кислородной смеси. В результате был получен выраженный регуляторный эффект, заключающийся в восстановлении адаптационного статуса на фоне удаления органов репродуктивной системы у женщин детородного возраста. Этот эффект демонстрирует свое важное значение для обоснования предупреждения развития хирургической менопаузы с клиническим проявлением посткастрационного синдрома в виде функциональных психоэмоциональных и нейрогуморальных нарушений с целью улучшения качества жизни и социальной реабилитации.

Участие авторов:

Кит О.И. – определение актуального направления исследования, общее руководство исследованием.

Попова Н.Н. – непосредственное выполнение исследования, обработка и анализ результатов, участие в написании статьи.

Шихлярова А.И. – формулировка цели исследования, формирование дизайна исследования и алгоритма воздействия, анализ результатов, написание статьи.

Франциянц Е.М. – участие в анализе результатов.

Моисеенко Т.И. – постановка конкретных клинических задач исследования, контроль состояния пациентов.

Меньшенина А.П. – непосредственное формирование групп пациентов и клиническое сопровождение исследования.

Жукова Г.В. – участие в анализе результатов исследования и написании статьи.

Протасова Т.П. – оценка адаптационного статуса пациентов.

Арапова Ю.Ю. – оценка показателей психосоматического состояния пациентов.

Список литературы

1. Ferlay J, Shin H-R, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer*. 2010 Dec 15;127(12):2893–2917. <https://doi.org/10.1002/ijc.25516>
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(6):394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
3. Злокачественные новообразования в России в 2016 г. (заболеваемость и смертность). Под редакцией Каприна А.Д., Старинского В.В., Петровой Г.В., 2018. 250 с. Доступно по: <https://docplayer.ru/68451567-Zlokachestvennye-novoobrazovaniya-v-rossii-v-2016-godu.html>
4. Аксель Е.М., Виноградова Н.Н. Статистика злокачественных новообразований женских репродуктивных органов. *Онкогинекология*. 2018;(3(27)):64–78.
5. Ашрафян Л.А., Киселев В.И., Кузнецов И.Н., Серова О.Ф., Узденова З.Х., Герфанова Е.В. Рак шейки матки: проблемы профилактики и скрининга в РФ. *Доктор.Ру*. 2019;(11(166)):50–54.
6. Мазитова, М.И., Антропова Е.Ю., Мардиева Р.Р. Посткастрационный синдром. *Дневник Казанской медицинской школы*. 2018;(1(19)):108–110.
7. Колбасова Е.А., Киселева Н.И., Арестова И.М., Кожар Е.Д., Яроцкая Н.Н. Содержание стабильных продуктов деградации монооксида азота у пациенток после хирургического выключения функции яичников в динамике послеоперационного периода. *Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармациии*. 2015;(1):136–138.
8. Levine ME, Lu AT, Chen BH, Hernandez DG, Singleton AB, Ferrucci L, et al. Menopause accelerates biological aging. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2016 16;113(33):9327–9332. <https://doi.org/10.1073/pnas.1604558113>
9. А.С.О, Дьяченко В.Г. Качество жизни больных раком молочной железы в процессе комплексной противоопухолевой терапии. *Вестник Общественного Здоровья И Здравоохранения Дальнего Востока России*. 2016;(4(25)):4.
10. Семиглазова Т.Ю., Телетаева Г.М., Козьявин Н.А., Загатина А.В. Диагностика и профилактика кардиотоксичности у больных раком молочной железы с позиций онколога и кардиолога. *Опухоли женской репродуктивной системы*. 2017;13(3):17–27.
11. Хохлова С.В., Коломиец Л.А., Кравец О.А., Морхов К.Ю., Нечушкина В.М., Новикова Е.Г. и др. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака шейки матки. *Злокачественные опухоли: Практические рекомендации RUSSCO*. 2018;8(3s2):178–189. <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2018-8-3s2-178-189>
12. Колбасова Е.А., Киселева Н.И., Арестова И.М. Сравнительная клинико-гормональная характеристика состояния здоровья и качество жизни женщин с хирургической и естественной менопаузой. *Вестник витебского государственного медицинского университета*. 2014;13(2):78–86.
13. Rocca WA, Grossardt BR, Shuster LT. Oophorectomy, Menopause, Estrogen Treatment, and Cognitive Aging: Clinical Evidence for a Window of Opportunity. *Brain Research*. 2011 Mar 16;1379:188–198. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.10.031>
14. Новикова Е.Г., Каприн А.Д., Трушина О.И. Взгляд онкогинеколога на скрининг рака шейки матки. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2014;14(5):39–43.
15. Игошина Т.В. Психофизиологическое обоснование применения метода ингаляции ксенона при коррекции невротических, связанных со стрессом расстройств у лиц опасных профессий: Дисс. ... докт. мед. наук. М., 2017, 25 с.
16. Чуруксаева О.Н., Коломиец Л.А. Проблемы качества жизни онкологических больных. *Вопросы онкологии*. 2017;63(3):368–374.

17. Corradetti B, Pisano S, Conlan RS, Ferrari M. Nanotechnology and Immunotherapy in Ovarian Cancer: Tracing New Landscapes. *J Pharmacol Exp Ther.* 2019;370(3):636–646. <https://doi.org/10.1124/jpet.118.254979>
18. Покуль Л.В. Природные и растительные биологические активные компоненты: возможности и перспективы в коррекции дисфункции молочных желез у пациенток репродуктивного возраста после тотальной овариоэктомии. *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.* 2014;13(2):16–22.
19. Ярмолинская М.И. Опыт применения микроиницированного прогестерона в комбинированной гормональной терапии у женщин в пери- и постменопаузе. *Акушерство и гинекология.* 2014;(9):108–113.
20. Прокопьева Т.А., Напольских В.М., Горбунова Е.Е. Качество жизни как критерий эффективности гормонотерапии в программе реабилитации больных цервикальным раком. *Здоровье, демография, экология финно-угорских народов.* 2016;(1):79–81.
21. Тотчиев Г.Ф., Котикова Н.П. Возможности преодоления негативных последствий климактерического синдрома. *Гинекология.* 2015;17(6.):11–13.
22. Довгуша В.В., Довгуша Л.В. Физические механизмы физиологического и биологического действия инертных газов на организм. Санкт-Петербург: Свое из-во, 2012.
23. Николаев Л.Л., Петрова М.В., Болихова Н.А., Добровольская Н.Ю., Потапов А.В. Ксенон как компонент терапии сопровождения при химиотерапии больных раком молочной железы. *Эффективная фармакотерапия.* 2014;(57):6–9.
24. Marx T, Schmidt M, Schirmer U, Reinelt H. Xenon as inhalation anaesthetic – Results from animal studies. *Applied Cardiopulmonary Pathophysiology.* 2000 Jan 1;9:124–128.
25. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С., Шихлярова А.И. Антистрессорные реакции и активационная терапия. Реакция активации как путь к здоровью через процессы самоорганизации. Екатеринбург. РИА «Филантроп». 2002: Часть 1., 2003: Часть 2.
26. Руководство по эндокринной гинекологии. Под ред. Вихляева Е.М. М.: МИА, 2000.
27. Huskisson EC. Measurement of pain. *Lancet.* 1974 Nov 9;2(7889):1127–1131. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(74\)90884-8](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(74)90884-8)
28. Gerbershagen HJ, Aduckathil S, van Wijck AJM, Peelen LM, Kalkman CJ, Meissner W. Pain intensity on the first day after surgery: a prospective cohort study comparing 179 surgical procedures. *Anesthesiology.* 2013 Apr;118(4):934–944. <https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e31828866b3>

Информация об авторах:

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

Попова Наталья Николаевна – врач-анестезиолог-реаниматолог ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3891-863X>, SPIN: 5071-5970, AuthorID: 854895, Scopus Author ID: 57215858399

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

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

Моисеенко Татьяна Ивановна – д.м.н., профессор, старший научный сотрудник отделения опухолей репродуктивной системы ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4037-7649>, SPIN: 6341-0549, AuthorID: 705829, Scopus Author ID: 57194270696

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

Жукова Галина Витальевна – д.б.н., старший научный сотрудник испытательного лабораторного центра ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8832-8219>, SPIN: 1887-7415, AuthorID: 564827, Scopus Author ID: 7005456284, ResearcherID: Y-4243-2016

Протасова Татьяна Пантелеевна – к.б.н., научный сотрудник испытательного лабораторного центра ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6364-1794>, SPIN: 4542-3581, AuthorID: 760427, Scopus Author ID: 57201681385

Арапова Юлия Юрьевна – к.б.н., научный сотрудник испытательного лабораторного центра ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4300-6272>, SPIN: 8454-0547, AuthorID: 208953, Scopus Author ID: 57208054166

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОЖНО-ФАСЦИАЛЬНЫХ ЛОСКУТОВ НА ПЕРФОРАНТНЫХ СОСУДАХ В ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ МЕЛАНОМЫ КОЖИ

Ю.В.Пржедецкий, В.В.Позднякова, Н.А.Максимова, О.В.Хохлова*, Н.А.Захарова,
М.Г.Ильченко, В.Ю.Пржедецкая

ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России,
344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Улучшение результатов хирургического лечения меланомы кожи конечностей с использованием кожно-фасциальных лоскутов на перфорантных сосудах.

Пациенты и методы. 42 больных меланомой кожи конечностей T1–3N0M0. Закрытие кожного дефекта выполнялось островковыми лоскутами на перфорантных сосудах. Детекцию перфорантных сосудов донорской зоны с оценкой кровоснабжения лоскутов осуществляли в пред- и послеоперационном периоде с помощью УЗИ и производили их маркировку с последующей корректировкой предварительной конфигурации лоскутов.

Результаты. Использовались постоянные перфорантные сосуды диаметром более 1 мм. После иссечения опухоли на противоположных сторонах раневого дефекта, учитывая расположение перфорантных сосудов, выкраивали лоскуты по разметке, рассекая кожу, жировую клетчатку и фасцию подлежащей мышцы, отделяли лоскут от мышечной ткани, сохраняя при этом целостность перфорантных сосудов. Состояние кровотока лоскутов определяли по цвету кожи и капиллярного ответа на пальцевую компрессию. Лоскуты смещали к центру, укрывали область дефекта и сшивали между собой, края донорской раны мобилизовывали, ушивали одиночными швами до края перемещенных лоскутов. В раннем послеоперационном периоде исследование параметров кровотока в перфорантных сосудах выявило отсутствие гемодинамически значимых нарушений. Преходящая ишемия одного из встречных лоскутов после операции развилась в 11,9% наблюдений, краевой некроз дистального лоскута – в 7,1% случаев. Формировался нормотрофический рубец, шириной не более 0,3 см, который эстетически удовлетворял 92,8% пациентов. Двухлетняя безрецидивная выживаемость показала отсутствие местных рецидивов.

Заключение. Лоскуты на перфорантных сосудах высоко жизнеспособны, сопоставимы по текстуре и цвету коже реципиентной области, а близость лоскутов к воспринимающему ложу минимально деформирует донорскую зону, что повышает радикальность операции, снижает число послеоперационных осложнений и повышает эстетические и функциональные результаты.

Ключевые слова:

меланома кожи конечностей, островковые кожно-фасциальные лоскуты, перфорантные сосуды, ультразвуковое исследование, интенсивность кровотока перфорантных сосудов

Для корреспонденции:

Хохлова Ольга Викторовна – к.м.н., старший научный сотрудник отделения реконструктивно-пластической хирургии и онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

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

E-mail: ysol@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7413-8393>

SPIN: 9529-9680, AuthorID: 736629

Scopus Author ID: 278641

Информация о финансировании: финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования:

Пржедецкий Ю.В., Позднякова В.В., Максимова Н.А., Хохлова О.В., Захарова Н.А., Ильченко М.Г., Пржедецкая В.Ю. Использование кожно-фасциальных лоскутов на перфорантных сосудах в хирургическом лечении меланомы кожи. Южно-российский онкологический журнал. 2020; 1(3): 18-26. <https://doi.org/10.37748/2687-0533-2020-1-3-2>

Получено 26.12.2019, Рецензия (1) 13.03.2020, Рецензия (2) 30.06.2020, Принята к печати 01.09.2020

USE OF SKIN-FASCIAL FLAPS ON PERFORATING VESSELS IN THE SURGICAL TREATMENT OF SKIN MELANOMA

Yu.V.Przhedetskiy, V.V.Pozdnyakova, N.A.Maximova, O.V.Khokhlova*, N.A.Zakharova, M.G.Ilchenko, V.Yu.Przhedetskaya

National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia,
63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

ABSTRACT

Purpose of the study. Improving the results of surgical treatment of melanoma of the skin of the extremities by using skin-fascial flaps on perforating vessels.

Patients and methods. In 42 patients with limb skin melanoma T1–3N0M0, the closure of a skin defect was performed by islet flaps on perforating vessels. Perforating vessels of the donor zone were detected with an assessment of the blood supply of the flaps in the pre- and postoperative period using ultrasound and marking of perforants with adjustment of the preliminary marking of the flaps.

Results. Permanent perforating vessels with a diameter of more than 1 mm were used. After excision of the tumor, on the opposite sides of the wound defect, taking into account the location of the perforating vessels, flaps were taken, with further mobilization by excision of the fiber and muscle fascia, they were separated from the underlying tissues while maintaining the integrity of the supply vessels. The circulatory state of the selected flaps was determined by skin color and capillary response to digital pressure. The flaps were displaced to the center, covered the area of the defect and sutured with single sutures, the edges of the donor wound were mobilized, sutured with single sutures until light tension appeared and sutured into the remaining wound defect. In the postoperative period, the determination of the parameters of the blood flow of perforating vessels showed the absence of hemodynamically significant violations of the blood flow during the movement of the flap. Transient ischemia of one of the oncoming flaps after surgery developed in 11.9%, marginal necrosis of the distal flap – in 7.1% of cases. A normotrophic scar was formed, with a width of not more than 0.3 cm, which aesthetically satisfied 92.8% of patients. Assessment of two-year relapse-free survival showed a complete absence of local relapses.

Conclusion. The flaps vascularized by perforating vessels have high viability, are identical in color and texture to the skin of the recipient area, and the close proximity to the receiving area contributes to minimal deformation of the donor area, which increases the radicality of the operation, reduces the incidence of postoperative complications and improves aesthetic and functional results.

Keywords:

limb skin melanoma, islet skin-fascial flaps, perforating vessels, ultrasound, blood flow intensity of perforating vessels

For correspondence:

Olga V. Khokhlova – Cand. Sci. (Med.), senior researcher of the Department of reconstructive plastic surgery and Oncology National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-don, Russian Federation.

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

E-mail: ysol@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7413-8393>

SPIN: 9529-9680, AuthorID: 736629

Scopus Author ID: 57188731183

Information about funding: no funding of this work has been held.

Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

For citation:

Przhedetskiy Yu.V., Pozdnyakova V.V., Maksimova N.A., Khokhlova O.V., Zakharova N.A., Ilchenko M.G., Przhedetskaya V.Yu. Use of skin-fascial flaps on perforating vessels in the surgical treatment of skin melanoma. South Russian Journal of Cancer. 2020; 1(3): 18-26. <https://doi.org/10.37748/2687-0533-2020-1-3-2>

Received 26.12.2019, Review (1) 13.03.2020, Review (2) 30.06.2020, Accepted 01.09.2020

ВВЕДЕНИЕ

Заболеемость меланомой кожи растет в различных странах мира в среднем в 2 раза каждые 15 лет [1], а частота летальных исходов составляет до 80% случаев среди всех форм злокачественных новообразований кожи [2, 3]. Хирургический метод является основным в комплексном лечении данного заболевания, но при этом восполнение кожного дефекта нередко вызывает трудности, обусловленные недостатком местных тканей или неблагоприятными условиями приживления аутодермотрансплантата, в связи с особенностями реципиентного ложа и де-

фицитом площади окружающей кожи [4]. Такими проблемными зонами являются верхние и нижние конечности, при этом локализация меланомы кожи в этой области встречается в 73,4% случаев.

Одной из главных задач при пластическом закрытии дефектов является сохранение жизнеспособности перемещенных тканевых фрагментов с их первичным приживлением в воспринимающем ложе, что в свою очередь зависит от точной оценки кровообращения в перемещаемых тканях [5, 6]. Для закрытия мягкотканых дефектов конечностей успешно применяются перфорантные лоскуты, поскольку формирование таких лоскутов не связано со значительной травма-

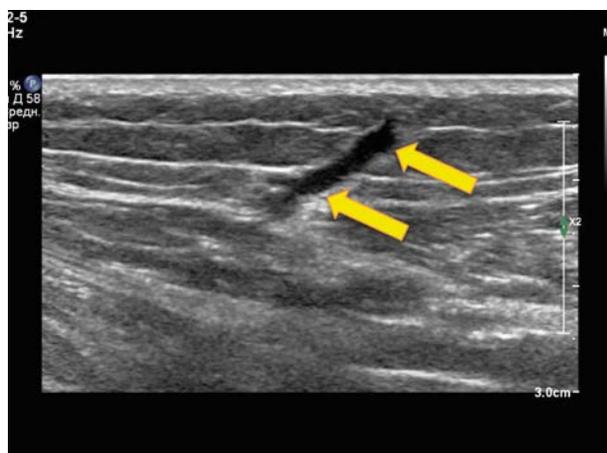


Рис. 1. Изображение перфорантного сосуда (указано стрелками) при широкополосном диапазоне линейного датчика 18-4 мГц в режиме серошкальной сонографии повышенной контрастности.

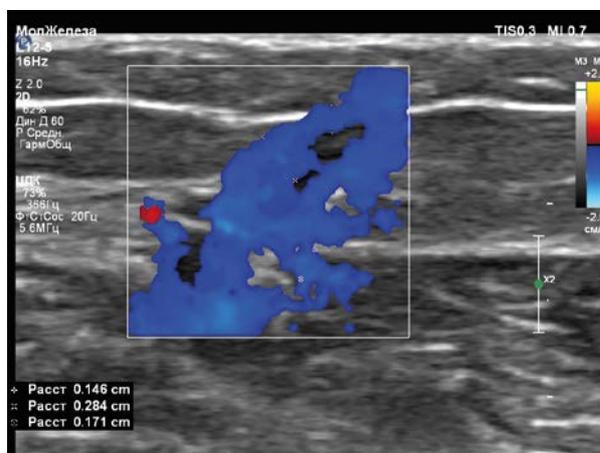


Рис. 2. Разветвленная сеть перфорантных вен в режиме увеличения при цветовом доплеровском картировании кровотока, измерение диаметров притоков (D=0,1 см, D=0,2 см, D=0,3 см).

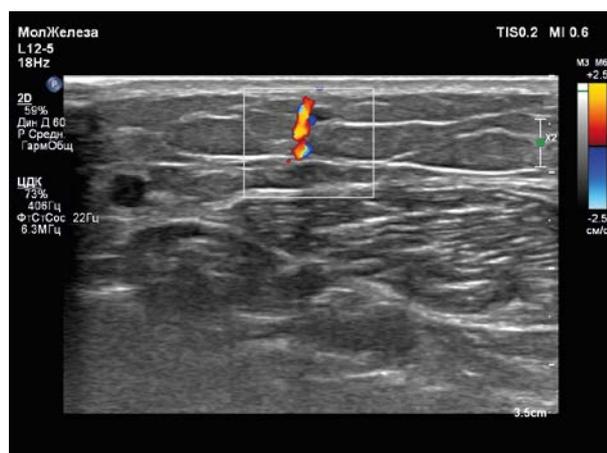


Рис. 3. Перфорантная артерия в режиме цветового доплеровского картирования.

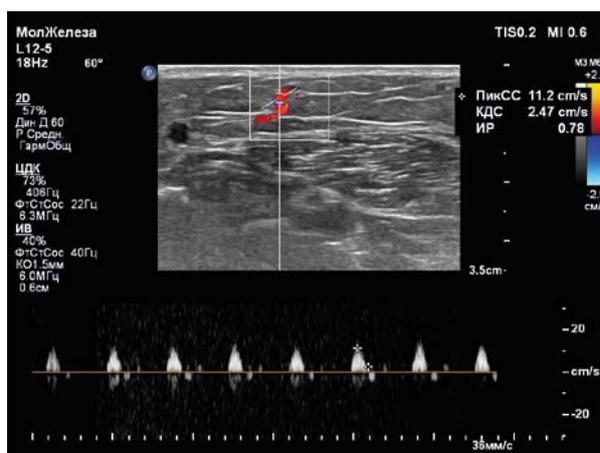


Рис. 4. Допплерометрия – определение параметров максимальной скорости в перфорантой артерии (MAC – 11,2 см/с).

тизацией донорской зоны, что позволяет осуществлять пластику дефектов кожи комплексами тканей из той же анатомической области. Данные лоскуты являются идентичными по цвету, текстуре и фактуре утраченным тканям, следовательно, способствуют благоприятному течению послеоперационного периода и получению хороших эстетических результатов [7]. Использование перфорантных лоскутов позволяет не затрагивать магистральные артерии, что важно для возможной последующей микрохирургической реконструкции с использованием данной зоны в качестве реципиентной [8].

При расположении меланомы кожи на конечностях возможно применение способа замеще-

ния обширных раневых дефектов островковыми кожно-фасциальными лоскутами с питанием через перфорантные сосуды. Лоскуты треугольной или серповидной формы бывают кожно-жировые, с диссекцией на уровне подкожного жира (эпифасциальные) или кожно-фасциальные, с выделением вместе с мышечной фасцией (субфасциальные). Данные лоскуты кровоснабжаются за счет перфорантных мышечно-кожных сосудов, исходящих из сегментарных сосудов, прободающих через фасцию в подкожную клетчатку. В лоскуте питание обеспечивается сосудистыми анастомозами между дермально-субдермальным сплетением и поверхностным капиллярным сплетением сосочкового слоя. Знание топографии питающих лоскутов сосудов влияет на продолжительность операции, ее травматичность, возможность успешного выделения тканевого комплекса, а также течение и продолжительность послеоперационного периода [5].

Цель исследования: улучшить результаты хирургического лечения меланомы кожи конечностей за счет пластики дефекта мягких тканей лоскутами на основе перфорантных сосудов.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена в отделении реконструктивно-пластической хирургии и онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России в 2015–2020 гг.. Исследование было одобрено локальным независимым этическим комитетом ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический инсти-

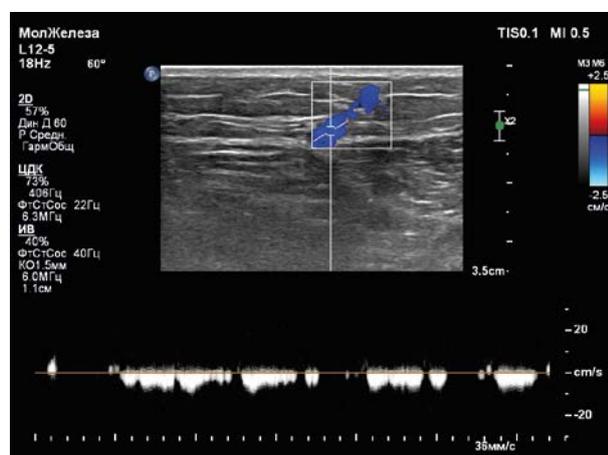


Рис. 5. Идентификация перфорантной вены для определения параметров максимальной венозной скорости кровотока (МВС 9,0 см/с).

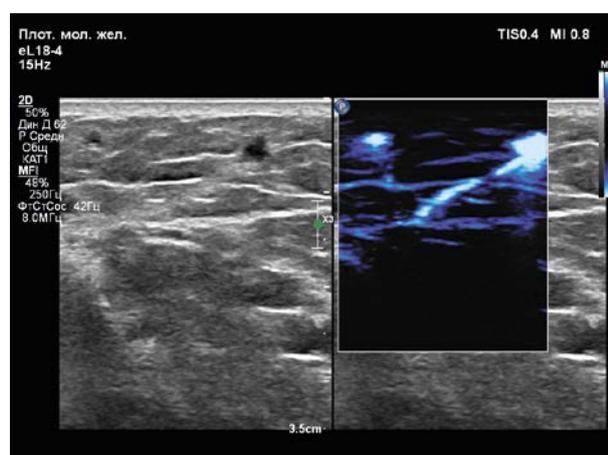


Рис. 6. Изображение микрососудистой сети перфорантных сосудов в режиме энергетического доплера при широкополосном диапазоне частот 4-18 мГц при подборе соответствующих сосудов для перемещения лоскута.



Рис. 7. Перфорантные сосуды отмечены точками на разметке будущих лоскутов.

При необходимости форма и расположение лоскутов изменялась в зависимости от топографии сосудов.

тут» Минздрава России в 2015 году. Все больные подписали информированное добровольное согласие на использование биологического материала в научных целях.

В исследовании были включены 48 больных с гистологически подтвержденной меланомой кожи конечностей T1–3N0M0. Всем пациентам проведен хирургический этап лечения с широким иссечением первичного очага и последующим закрытием кожного дефекта островковыми лоскутами на перфорантных сосудах. Критериями включения в исследования были: размеры опухоли не более 25% периметра конечности на уровне поражения, наличие в зоне интереса перфорантных сосудов приемлемого диаметра (не менее 1 мм по данным ультразвукового сканирования). Большинство пациентов были женщины – 26 (54,2%), мужчины – 22 (47,8%). Средний возраст пациентов составил 51,7±8,7 лет.

Узловая морфологическая форма встречалась в большинстве случаев и составила 81,3% (39 из 48 пациентов), поверхностно-распространяющаяся форма наблюдалась у 18,7% (9 из 48 пациентов). По локализации новообразования больные распределились следующим образом: плечо – 8 (16,7%) больных, предплечье – 13 (27,1%), бедро – 5 (10,4%), голень – 22 (45,8%) пациентов. I стадия процесса диагностирована – у 8 (16,7%) пациентов, II стадия – у 17 (35,4%), III стадия – у 23 (47,9%) больных.

При планировании операции оценку будущего раневого дефекта осуществляли на основании принципов онкохирургии с учетом размеров, формы, глубины инвазии опухоли и состояния тканей с учетом перенесенных операций, лучевой терапии и других факторов.

Детекцию перфорантных сосудов, диаметра сосудов и интенсивности кровотока (МАС – максимальная артериальная скорость и МВС – максимальная венозная скорость) осуществляли в пред- и послеоперационном (на 5–7-е сутки) периоде на ультразвуковом аппарате «Epiq 5» (Phillips) широкополосными мультисекторными датчиками с диапазоном частот 4–18 МГц в режимах энергетического, цветового, (ЭДК и ЦДК) и спектрального доплеровского картирования. Скорость кровотока классифицировали как низкую – до 5 см/с, среднюю – 5,1–10,0 см/с, высокую – от 10,1 см/с и более. Так же дифференцировался тип кровотока (артериальный или венозный) (рис. 1–6).

До операции производили детекцию перфорантов на коже с их маркировкой с помощью УЗ-исследования, при необходимости, с последующей корректировкой предварительно размеченных лоскутов (рис. 7). При этом необходимым условием было включение в каждый лоскут минимум одного артериального и одного венозного перфорантных сосудов.

Таблица 1. Распределение перфорантных сосудов по диаметру

Диаметр перфорантных сосудов, мм	Число перфорантных артерий		Число перфорантных вен	
	Абс	%	Абс.	%
1,0-1,5	120	51,7	92	41,1
1,6-2,0	82	35,3	88	39,3
2,1-3,0	30	13,0	44	19,6
Итого:	232	100	224	100

Таблица 2. Допплерометрические параметры максимальной артериальной скорости кровотока в перфорантных артериях и максимальной венозной скорости кровотока в перфорантных венах до и после операции

Диапазон максимальной артериальной скорости, см/с		Среднее значение максимальной артериальной скорости, см/с		Диапазон максимальной венозной скорости, см/с		Среднее значение максимальной венозной скорости, см/с	
До операции	После операции	До операции	После операции	До операции	После операции	До операции	После операции
5-25	5-18	14,2±5,3*	12,1±3,2*	5-12	5-10	9,1±1,3**	7,3±1,2**

Примечание: ** p>0,05 (различия недостоверны)

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе исследования было выявлено, что поверхностно-распространяющийся тип роста меланомы кожи в 100% наблюдений имел аваскулярный тип ультразвукового изображения, а узловые формы – артерио-артериальный тип кровотока высокой (100%) и средней интенсивности (95%). Для узловых форм характерным признаком являлись разветвленная сосудистая сеть со множественными сосудами разных диаметров, наличие патологических анастомозов и псевдопульсацией, довольно типичными для процессов неангиогенеза, с диапазоном МАС 5,3–47,8 см/с [9, 10].

При ультразвуковом сканировании были выявлены особенности топографической анатомии перфорантных сосудов конечностей. Чаще всего выявлялись непостоянные перфорантные сосуды в участках, которые и были нами в дальнейшем использованы в ходе закрытия раневого дефекта. Так доля непостоянных артериальных перфорантных сосудов на верхних конечностях составляла на плече 60,0% (24 из 40 перфорантных артерий), на предплечье – 64,1% (41 из 64). Оценка топографической анатомии перфорантных сосудов нижних конечностей показала также превалирование непостоянных артерий: на бедре их доля составила 56,0% (14 из 25 выявленных сосудов), а на голени – 80,9% (85 из 105 обнаруженных сосудов). Было показано, что большинство постоянных перфорантных сосудов находилось на передней поверхности бедра – из бассейна

бедренной и коленных артерий; на задней поверхности бедра – из подколенной артерии и медиальной артерии, огибающей бедренную кость и на латеральной поверхности бедра – из глубокой бедренной артерии. По результатам этой части исследования можно заключить, что предварительный доплерографический контроль сосудов донорской области при планировании реконструктивно-пластической операции является обязательной процедурой, что связано с различной локализацией патологических образований, а также выраженным непостоянством сосудистой топографии конечностей по сравнению с туловищем. Ранее, при ультразвуковом сканировании в режимах ЦДК, ЭДК был обнаружен различный тип васкуляризации и интенсивности кровотока самих патологическим очагов.

При оценке размеров перфорантных сосудов было показано, что их внутренний диаметр составлял от 1 до 3 мм, с преобладанием диапазона 1,0–1,5 мм как артериальных, так и венозных сосудов (табл. 1).

Далее под УЗИ-контролем осуществляли маркировку выявленных перфораторов на коже, корректировали форму и расположение лоскутов, принимая во внимание сосудистую архитектуру донорской зоны. Под местной анестезией иссекали патологический очаг, отступая на необходимое расстояние, обеспечивающее радикальность оперативного вмешательства. Наиболее рациональным, на наш взгляд, является циркулярный разрез вокруг патологического очага, так как он позволяет удалять равное количество кожи вокруг опухоли со всех сторон без напрасной резекции интактных окружающих тканей.

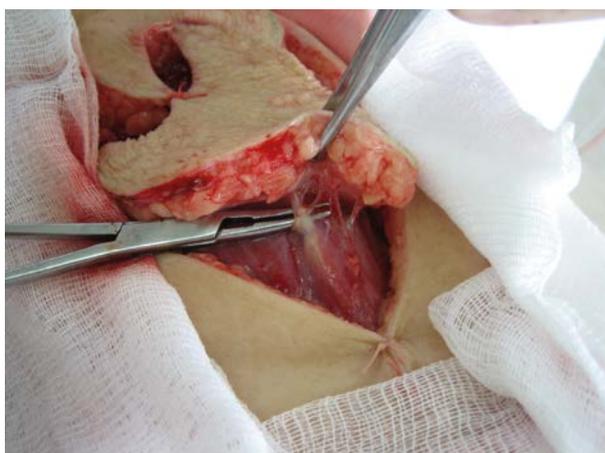


Рис. 8. Кожно-фасциальные лоскуты мобилизованы и зафиксированы наводящим швом. На зажиме показан венозный перфорантный сосуд.



Рис. 9. Вид раны по завершению операции. Лоскуты смещены по длине и ширине в сторону дефекта тканей и сшиты между собой.



Рис. 10. Эстетико-функциональный результат пластического закрытия дефекта встречными перфорантными лоскутами через 6 месяцев.



Рис. 11. Эстетико-функциональный результат пластического закрытия дефекта медиальной поверхности предплечья встречными перфорантными лоскутами через 8 месяцев.



Рис. 12. Эстетико-функциональный результат пластического закрытия дефекта латеральной поверхности предплечья встречными перфорантными лоскутами через 6 месяцев.

На противоположных сторонах дефекта выкраивали треугольные или подковообразные лоскуты с учетом локализации перфорантных сосудов. Дополнительная мобилизация лоскутов осуществлялась путем просечения мышечной фасции, затем кожно-фасциальный лоскут отделяли тупым путем от подлежащих тканей с сохранением целостности питающих сосудов (рис. 8).

Необходимо отметить, что гемостаз на лоскуте осуществлялся исключительно в биполярном режиме, так как коагуляция кровоточащего сосуда на мобилизованном лоскуте в монополярном режиме чревата коагуляцией перфорантных сосудов как единственных токопроводящих мостиков. Перфузию выделенных на сосудистых ножках лоскутов оценивали с помощью двух основных клинических симптомов: цвета кожи и скорости капиллярного ответа на компрессию лоскута пальцем. Затем лоскуты перемещали друг к другу, закрывая область дефекта прямо или с боковым смещением, и сшивали друг с другом. Кожные края донорской зоны мобилизовывали, дистальные отделы раны ушивали «на себя» до появления легкого натяжения, далее лоскуты сшивались одиночными швами в раневом дефекте реципиентной зоны. Раны дренировали резиновыми выпускниками с целью предотвращения сдавления сосудистой ножки раневым отделяемым (рис. 9). Швы снимали через 12–16 дней.

Ультразвуковое исследование скорости кровотока в перфорантных сосудах до хирургического вмешательства установило, что линейная скорость кровотока в перфорантных артериях варьировала от 5 до 25 см/с (в среднем $14,2 \pm 5,3$ см/с), а максимальная венозная скорость составила от 5 до 12 см/с (в среднем $9,1 \pm 1,3$ см/с) (табл. 2).

Определение параметров кровотока перфорантных сосудов в раннем послеоперационном периоде показало, что средняя МАС составила $12,1 \pm 3,2$ см/с против $14,2 \pm 5,3$ см/с на дооперационном этапе, а средняя МВС — $7,3 \pm 1,2$ см/с против $9,1 \pm 1,3$ см/с соответственно, что может быть расценено как незначительное (статистически недостоверное) снижение гемодинамики тканевых фрагментов после их перемещения (табл. 2).

При оценке состояния перемещенных лоскутов в отдельных случаях выявлялись преходящая ишемия одного или обоих лоскутов, которая развилась в 5 случаях (10,4%), и краевой некроз дистального лоскута — в 3 (6,3%) случаях. При оценке эстетико-функциональных результатов отмечено, что в боль-

шинстве наблюдений формировался эластичный нормотрофический рубец, шириной до 0,2 см, который удовлетворял 91,7% пациентов (рис. 10–12). У 4 больных отмечено формирование длительно несозревающих гипертрофических рубцов в местах максимального натяжения тканей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При корректной ультразвуковой детекции перфорантных сосудов кожно-фасциальные лоскуты сохраняют высокий потенциал кровоснабжения, соответствуют по фактуре, текстуре и цвету коже реципиентной области, а близость их расположения

к воспринимающей зоне способствует минимальной рубцовой и контурной деформации донорского участка. Предоперационная ультразвуковая диагностика перфорантных сосудов способствует оптимальному выбору расположения и формы лоскута с включением в его состав артериальных и венозных сосудов достаточного диаметра. Предлагаемый метод хирургического лечения меланомы кожи конечностей существенно повышает радикальность операции за счет возможности пластического укрытия возникающего дефекта, снижает частоту послеоперационных осложнений в сравнении с традиционными способами закрытия ран и улучшает эстетико-функциональные результаты.

Участие авторов:

Пржедецкий Ю.В. – концепция и дизайн исследования, оперирование, научное редактирование материала.

Позднякова В.В. – техническое редактирование материала статьи.

Максимова Н.А. – сбор, анализ и интерпретация данных УЗИ, подготовка иллюстраций.

Хохлова О.В. – оперирование, ассистирование на операциях, написание текста.

Захарова Н.А. – обработка материала.

Ильченко М.Г. – сбор, анализ и интерпретация данных, подготовка иллюстраций.

Пржедецкая В.Ю. – оформление библиографии, техническое оформление статьи.

Список литературы

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin.* 2015 Feb; 65(1):5–29. <https://doi.org/10.3322/caac.21254>
2. Пак Д.Д., Лазутина Т.Н. Опухоли кожи. Онкология, национальное руководство. М., 2014, 848–863.
3. Кит О.И., Дашкова И.Р., Ващенко Л.Н. Использование реконструктивно-пластических операций в лечении злокачественных опухолей. *Новочеркасск.* 2017;192–202.
4. Азимова Р.Б., Соболевский В.А. Перфорантные лоскуты в хирургическом лечении злокачественных опухолей кожи и мягких тканей голени и стопы. *Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи.* 2016;2:54–60.
5. Гарелик Е.И., Гилева К.С., Абдуллаев К.Ф., Васильев Е.А., Орлова Е.В. Топографо-анатомическое исследование переднебокового лоскута бедра на перфорантных сосудах. *Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии.* 2016;4:20–26.
6. Максимова Н.А., Пржедецкий Ю.В., Хохлова О.В., Позднякова В.В., Ильченко М.Г., Максимова М.И. Ультразвуковое исследование при планировании операций по поводу меланомы кожи конечностей. *Сибирский онкологический журнал.* 2019;18(1):95–102. <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2019-18-1-95-102>
7. Hwang KT, Kim YH. Double skin perforator flaps for aesthetic resurfacing of extensive limb defects. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2015 Feb;68(2):E47-E49. <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2014.10.051>
8. Мельников В.С., Коршунов В.Ф., Романов С.Ю., Магнитская Н.Е. Применение островковых и перфорантных лоскутов для замещения дефектов покровных тканей кисти. *Травматология и ортопедия России.* 2014;(3(73)):39–43.
9. Аллахвердян Г.С., Чекалова М.А. Дооперационная оценка первичной меланомы кожи при ультразвуковом исследовании. *Ультразвуковая и функциональная диагностика.* 2015;(4S):16а.
10. Максимова Н.А., Позднякова В.В., Курышова М.И., Ильченко М.Г. Ультразвуковая диагностика меланодермальных образований кожи. *Современные проблемы науки и образования.* 2015;(3):182.

Информация об авторах:

Пржедецкий Юрий Валентинович – д.м.н., профессор, заведующий отделением реконструктивно-пластической хирургии и онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3976-0210>, SPIN: 3888-6265, AuthorID: 702006, ResearcherID: AAT-7598-2020, Scopus Author ID: 57188731912

Позднякова Виктория Вадимовна – д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник отделения реконструктивно-пластической хирургии и онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3782-6899>, SPIN: 7306-2034, AuthorID: 700139, ResearcherID: ATT-67-07-2020, Scopus Author ID: 54380529400

Максимова Наталья Александровна – д.м.н., профессор, заведующая радиоизотопной лабораторией с группой УЗИ диагностики ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0400-0302>, ResearcherID: AAT-9775-2020, Scopus Author ID: 57211495326

Хохлова Ольга Викторовна* – к.м.н., старший научный сотрудник отделения реконструктивно-пластической хирургии и онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7413-8393>, SPIN: 9529-9680, AuthorID: 736629, Scopus Author ID: 278641

Захарова Наталья Александровна – к.м.н., старший научный сотрудник реконструктивно-пластической хирургии и онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7089-5020>, SPIN: 2182-9981, AuthorID: 706088

Ильченко Мария Геннадьевна – к.м.н., научный сотрудник отдела диагностики опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9126-0646>, SPIN: 2856-7946, AuthorID: 734046, Researcher ID: AAT-9807-2020, Scopus Author ID: 734046

Пржедецкая Виктория Юрьевна – врач-онколог отделения реконструктивно-пластической хирургии и онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0278-8730>, SPIN: 7742-0850, AuthorID: 901373, ResearcherID: AAT-7752-2020, Scopus Author ID: 57202468879

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОФЕНОТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МОНОКЛОНАЛЬНОЙ ПОПУЛЯЦИИ В-ЛИМФОЦИТОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЛИМФОЛЕЙКОЗЕ

Н.К.Гуськова*, О.Н.Селютина, И.А.Новикова, А.Ю.Максимов, А.С.Ноздричева, С.В.Абакумова

ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России,
344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Оценить особенности морфологических и иммунофенотипических характеристик лимфоидной популяции с различной рестрикцией легких цепей иммуноглобулинов у пациентов с хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ).

Материалы и методы. Обследованы 30 больных ХЛЛ (20 мужчин и 10 женщин) в возрасте 47–79 лет. Выполнены общеклинический анализ крови (SysmexXE 2100, Япония), морфологическое исследование костного мозга (BioVision; Micros, Австрия), иммунофенотипирование костного мозга и периферической крови методом проточной цитофлуориметрии (Navios10/3, Beckman Coulter, США). В-клеточная клональность устанавливалась обнаружением рестрикции легких цепей поверхностных иммуноглобулинов карра или lambda. Проведен морфологический анализ лимфоцитов, различающихся по экспрессии легких цепей поверхностных иммуноглобулинов: карра (κ) – I группа (22 чел. – 73,3%), lambda (λ) – II группа (8 чел. – 26,7%).

Результаты. Определение типов клеток по значениям прямого (FSC) и бокового (SSC) светорассеяния при иммунофенотипировании образцов периферической крови и костного мозга показало, что у больных I группы (CD19κ+/CD5+/CD23+) на диаграмме светорассеяния лимфоидная популяция имела низкие показатели параметров: по шкале FSC – от 200 до 400, по SSC – от 10 до 160 единиц, что указывает на морфологическую однородность клеток. Во II группе (CD19λ+/CD5+/CD23+), напротив, на скеттограмме светорассеяния лимфоидная зона была неоднородна и растянута: по шкале FSC – от 200 до 1000, по SSC – от 10 до 400 единиц, что свидетельствует о морфологическом полиморфизме клеток. Отмечены различия и в экспрессии общелейкоцитарного антигена CD45. В I группе экспрессия выше: популяция В-лимфоцитов по интенсивности флуоресценции находится на точечном графике по шкале CD45 во второй половине третьей декады и в четвертой декаде – правее, чем во II-й группе, в которой В-лимфоциты лежат в третьей декаде. Данные свидетельствуют, что популяция CD19κ+/CD5+/CD23+ представлена зрелыми клетками, а популяция CD19λ+/CD5+/CD23+ – менее зрелыми и/или промежуточными формами. Значительные морфологические различия популяций лимфоцитов отмечены и при микроскопическом исследовании препаратов крови и костного мозга.

Заключение. Установленные иммунофенотипические и морфологические различия лимфоидных популяций, экспрессирующих либо карра-, либо lambda- легкие цепи иммуноглобулинов, важны для выделения групп риска среди больных с биологически разнородными вариантами хронического лимфолейкоза.

Ключевые слова:

хронический лимфолейкоз, морфологические и иммунофенотипические особенности, каппа/лямбда легкие цепи иммуноглобулинов, проточная цитофлуориметрия, общелейкоцитарный антиген, CD-антигены

Для корреспонденции:

Гуськова Наиля Катифовна – к.б.н., заведующая клинико-диагностической лабораторией ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

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

E-mail: guskova.nailya@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4222-1579>

SPIN: 5407-6285, AuthorID: 306979

Информация о финансировании: финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования:

Гуськова Н.К., Селютина О.Н., Новикова И.А., Максимов А.Ю., Ноздричева А.С., Абакумова С.В. Морфологические и иммунофенотипические особенности моноклональной популяции В-лимфоцитов при хроническом лимфолейкозе. Южно-российский онкологический журнал. 2020; 1(3): 27-35. <https://doi.org/10.37748/2687-0533-2020-1-3-3>

Получено 20.05.2020, Рецензия (1) 29.06.2020, Рецензия (2) 14.07.2020, Принята к печати 01.09.2020

MORPHOLOGICAL AND IMMUNOPHENOTYPIC FEATURES OF THE MONOCLONAL POPULATION OF B-LYMPHOCYTES IN CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

N.K.Guskova*, O.N.Selyutina, I.A.Novikova, A.Yu.Maksimov, A.S.Nozdricheva, S.V.Abakumova

National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia,
63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

ABSTRACT

Purpose of the study. To evaluate the features of morphological and immunophenotypic characteristics of the lymphoid population with different restriction of light chains of immunoglobulins in patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL).

Materials and methods. The study included 30 CLL patients aged 47–79 years (20 men and 10 women). All patients underwent a General clinical blood test (SysmexXE 2100, Japan), morphological examination of the bone marrow (BioVision; Micros, Austria), immunophenotyping of bone marrow and peripheral blood by flow cytometry (Navios10/3, Beckman Coulter, USA). B-cell clonality established by detection of restriction of light chains of surface immunoglobulins kappa or lambda. Morphological analysis of lymphocytes that differ in the expression of light chains of surface immunoglobulins: kappa (k) – group I (22 people – 73,3%), lambda (λ) – group II (8 people – 26,7%).

Results. Determination of cell types by values of direct (FSC) and lateral (SSC) light scattering during immunophenotyping of peripheral blood and bone marrow samples showed that in patients of group I (CD19k+/CD5+/CD23+) on the light scattering diagram, the lymphoid population had low parameters: on the FSC scale – from 200 to 400, on the SSC – from 10 to 160 units, which indicates morphological uniformity of cells. In group II (CD19λ+/CD5+/CD23+), on the contrary, on the light scattering sketogram, the lymphoid zone was heterogeneous and stretched: on the FSC scale – from 200 to 1000, on the SSC – from 10 to 400 units, which indicates morphological polymorphism of cells. There were also differences in the expression of the common leukocyte antigen CD45. In group I, the expression is higher: the population of B-lymphocytes in terms of fluorescence intensity is on the dot graph on the CD45 scale in the second half of the third decade and in the fourth decade – to the right, than in group II, in which B-lymphocytes lie in the third decade. The data indicate that the CD19k+/CD5+/CD23+ population is represented by Mature cells, while the Cd19k+/CD5+/CD23+ population is represented by less Mature and / or intermediate forms. Significant morphological differences in lymphocyte populations were also observed in microscopic studies of blood and bone marrow preparations.

Conclusion. The established immunophenotypic and morphological differences in lymphoid populations expressing either kappa – or lambda-light chains of immunoglobulins may be important for identifying risk groups among patients with biologically heterogeneous variants of chronic lymphocytic leukemia.

Keywords:

chronic lymphocytic leukemia, morphological and immunophenotypic features, kappa / lambda light chains of immunoglobulins, flow cytometry, general leukocyte antigen, CD antigens

For correspondence:

Nailya K. Guskova – Cand. Sci. (Biol.), head of clinical diagnostic laboratory, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation.

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

E-mail: guskova.nailya@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4222-1579>

SPIN: 5407-6285, AuthorID: 306979

Information about funding: no funding of this work has been held.

Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

For citation:

Guskova N.K., Selyutina O.N., Novikova I.A., Maksimov A.Yu., Nozdricheva A.S., Abakumova S.V. Morphological and immunofenotypic features of the monoclonal population of B-lymphocytes in chronic lymphocytic leukemia. South Russian Journal of Cancer. 2020; 1(3): 27-35.

<https://doi.org/10.37748/2687-0533-2020-1-3-3>

Received 20.05.2020, Review (1) 29.06.2020, Review (2) 14.07.2020, Accepted 01.09.2020

АКТУАЛЬНОСТЬ

Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) относится к группе В-клеточных опухолей из зрелых (периферических) клеток и представляет собой опухоль лимфоидной ткани, характеризующуюся поражением костного мозга и лимфатических узлов [1]. ХЛЛ – распространенный тип В-лимфопрлиферативных заболеваний, который, в основном, поражает взрослых старше 50 лет, прогрессирует медленно и часто протекает без видимых симптомов в течение длительного времени. Заболевание выявляется, чаще всего, случайно [2].

Для больных ХЛЛ характерен абсолютный лимфоцитоз периферической крови – более $5,0 \times 10^9/\text{л}$ и лимфоцитоз в костном мозге – более 30% [3]. На основании цитологических признаков клеток лимфоидного ряда в ФАБ-классификации (Bennet J.M., 1989) выделяют два морфологических варианта В-ХЛЛ: типичный, представленный однообразными небольшими лимфоцитами, и смешанно-клеточный, в котором субстрат опухоли неоднороден и состоит из клеток с различными морфологическими признаками – типичных и атипичных лимфоцитов, пролимфоцитов [4]. Показано, что в случаях смешанно-клеточного варианта В-ХЛЛ клиническое состояние, восприимчивость к терапии и продолжительность жизни пациентов имеют значимо худшие характеристики по сравнению с типичным вариантом заболевания [5].

В современной диагностике выявление иммунофенотипа опухолевой популяции осуществляется методом проточной цитофлуориметрии крови/костного мозга. Опухолевые клетки при ХЛЛ экспрессируют антигены – CD19, CD5, CD23, CD20 (слабая), CD22(слабая), CD43. В-клеточная клональность устанавливается определением соотношения экспрессии κ - и λ - (каппа-, lambda-) легких цепей иммуноглобулинов [6, 7]. Из данных литературы известно, что концентрацию свободных легких цепей (СЛЦ) иммуноглобулинов (Ig) сыворотки крови можно рассматривать как новый биологический маркер, позволяющий разделить ХЛЛ по этому признаку на СЛЦ-позитивную и СЛЦ-негативную формы. В ходе ряда исследований был отмечен клональный характер изменений концентраций СЛЦ и установлено, что данный критерий можно рассматривать как интегральный показатель массы опухоли и фактор эффективности терапии. Больные ХЛЛ с разными формами могут

иметь разные прогностические риски течения заболевания [8]. Связь выявленных изменений концентраций СЛЦ Ig сыворотки крови у больных ХЛЛ с клинической картиной заболевания представлены в ряде работ [9–12]. Интерес к этим исследованиям по-прежнему остается высоким.

Однако к настоящему времени отсутствуют данные по сопоставлению иммунофенотипических различий опухолевого пула, экспрессирующего κ - и λ - легкие цепи иммуноглобулинов, с различными морфологическими характеристиками субстрата опухоли при В-ХЛЛ, что представляет несомненный интерес.

Цель исследования: оценить особенности морфологических и иммунофенотипических характеристик лимфоидной популяции с различной рестрикцией легких цепей иммуноглобулинов у пациентов с хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 30 больных хроническим лимфолейкозом в возрасте 47–79 лет, медиана $64,9 \pm 8,6$ лет. Среди них 20 мужчин (66,7%) и 10 женщин (33,3%). Всем пациентам выполнены общеклинический анализ крови с подсчетом суммарного показателя лейкоцитов (WBC), параметров лейкоцитарного профиля – миелоцитов, лимфоцитов, нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов, базофилов (SysmexXE 2100, Япония), морфологическое исследование костного мозга и периферической крови с применением метода Паппенгейма-Крюкова, заключающегося в окраске мазков краской-фиксатором Мая-Грюнвальда и краской Романовского с использованием программно-аппаратного комплекса (BioVision; Micros, Австрия), иммунофенотипирование костного мозга и периферической крови методом многоцветной проточной цитофлуориметрии (Navios 10/3, BeckmanCoulter, США). В исследовании были использованы клетки нативного костного мозга и периферической крови в растворе антикоагулянта ЭДТА. Исследуемая панель включала комбинацию моноклональных антител: CD45 PB, CD19 ECD, CD20 PC7, CD22 PE, CD23 PE, CD43 APC, CD200 APC, CD5 PC7, CD5 APC, CD3 PC7, CD4 FITC, CD8 ECD, CD56 PC5, CD38 FITC, κ FITC, λ PE, изотипические контроли (Beckman Coulter, США). Экспрессия маркера учитывалась в случае обнаружения его

на 20% клеток и более. Выраженная экспрессия устанавливалась при обнаружении антигена на более чем половине клеток. Экспрессия В-линейно ассоциированных антигенов оценивалась в гейте CD19-позитивных клеток [7, 13]. В-клеточная клональность устанавливалась обнаружением рестрикции легких цепей поверхностных иммуноглобулинов (каппа или lambda). Моно-

клональными считались варианты, при которых отношение κ : λ составляло более 4:1 или менее 1:2 [14, 15]. Иммунофенотип лейкоемического клона В-ХЛЛ характеризовался экспрессией антигенов CD5+ и CD23+ в популяции CD19-позитивных лимфоидных клеток. Количество клеток, экспрессирующих маркеры, определялось в процентах.

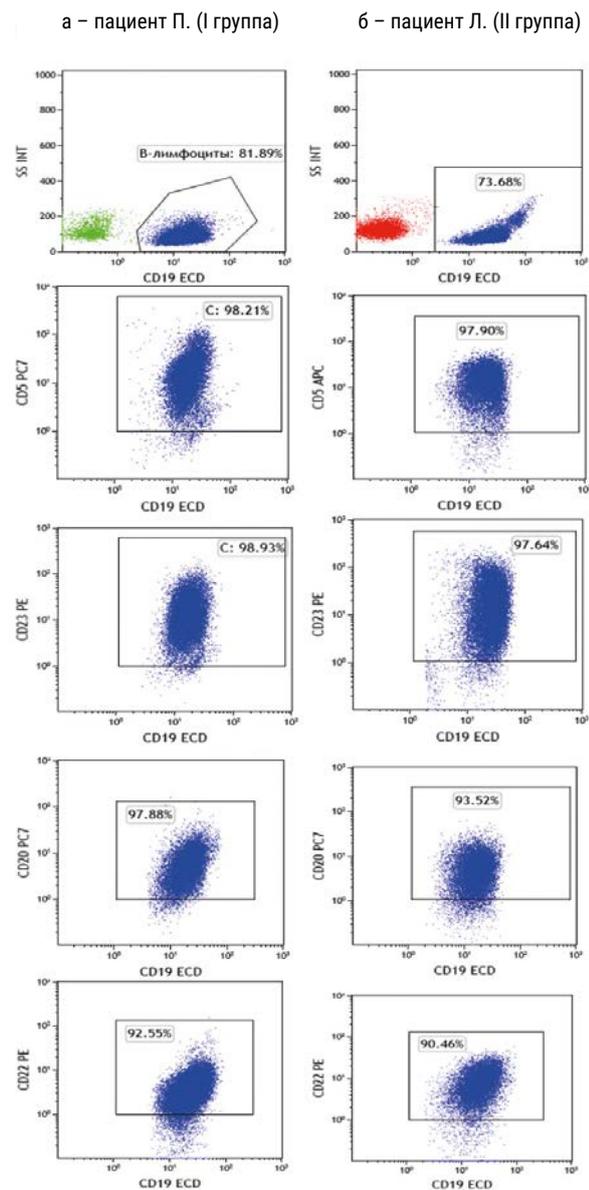


Рис. 1. Результаты иммунофенотипирования периферической крови больных ХЛЛ методом проточной цитометрии. Точечные графики экспрессии основных анализируемых маркеров. Синим цветом выделена популяция патологических В-лимфоцитов: а – пациент П. (I группа), б – пациент Л. (II группа).

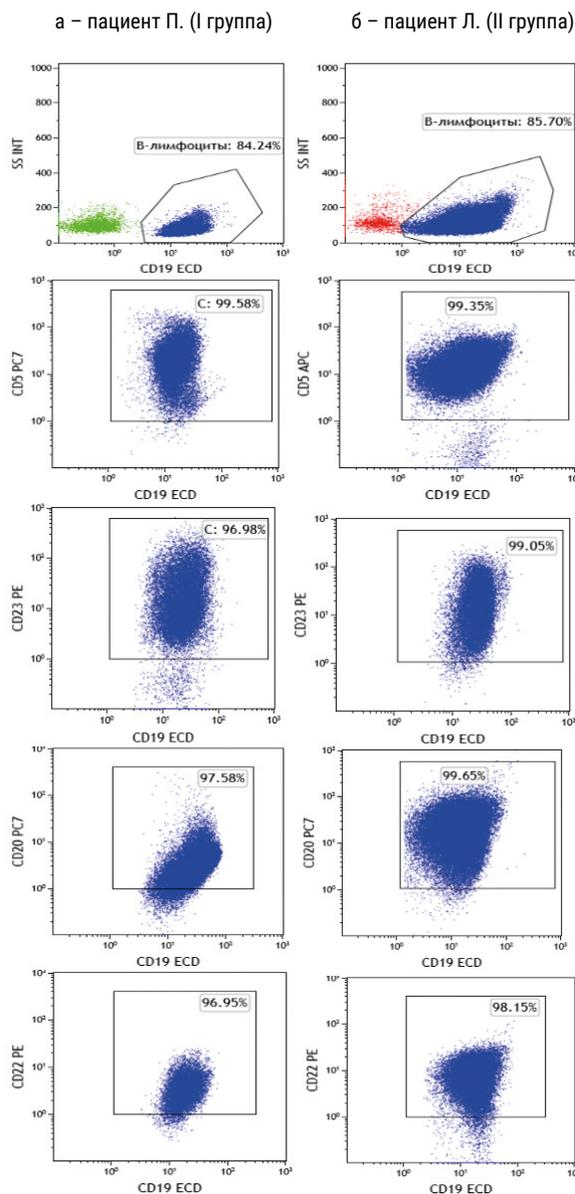


Рис. 2. Результаты иммунофенотипирования костного мозга больных ХЛЛ методом проточной цитометрии. Точечные графики экспрессии основных анализируемых маркеров. Синим цветом выделена популяция патологических В-лимфоцитов: а – пациент П. (I группа), б – пациент Л. (II группа).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование иммунофенотипа лимфоцитов костного мозга и периферической крови проводилось всем пациентам с ХЛЛ. Выявлена моноклональная В-клеточная пролиферация лимфоцитов с иммунофенотипом, характерным для В-ХЛЛ/лимфомы из малых лимфоцитов – CD19+/CD5+/CD23+/CD20+(слабая экспрессия)/CD22+ (слабая экспрессия). При определении клональности по рестрикции легких цепей поверхностных иммуноглобулинов – карра или lambda установлено, что у 22 больных (73,3%) опухолевые клетки экспрессируют к-легкие цепи иммуноглобулинов – от 87,5% до 100% (I группа), у 8 (26,7%) – λ – от 95,9% до 100% (II группа) (рис. 1,2,3).

Активационный антиген CD38 представлен вариабельно: в I группе от 0,1% до 94,5%, во II-й от 0,5% до 69,2%. Отличий в экспрессии других маркеров не отмечено. Вместе с тем, при иммунофенотипировании образцов периферической крови и костного мозга обнаружены определенные различия

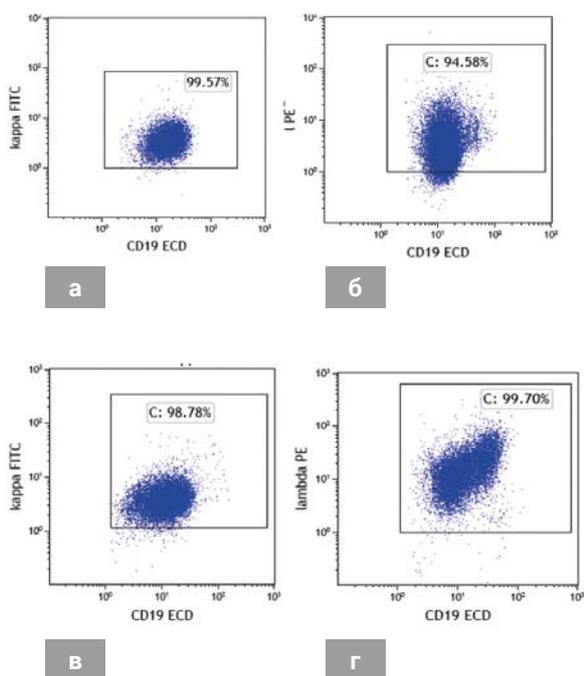


Рис. 3. Гистограммы экспрессии легких цепей поверхностных иммуноглобулинов (карра/lambda). Синим цветом выделена популяция патологических В-лимфоцитов: а – периферическая кровь пациента П. (I группа), б – периферическая кровь пациента Л. (II группа), в – костный мозг пациента П. (I группа), г – костный мозг пациента Л. (II группа).

между указанными группами пациентов. Комбинация бокового и прямого светорассеяния позволяет судить о морфологии клетки в целом и выделять различные популяции клеток для дальнейшего анализа. Прямое светорассеяние FSC дает исследователю информацию о размере клетки. Боковое SSC светорассеяние позволяет судить о наличии в клетке гранул, соотношении ядро/цитоплазма и других параметрах. Например, использование только двух перечисленных выше детекторов позволяет провести первичный анализ популяций лейкоцитов. Лимфоциты являются самыми маленькими клетками с круглым ядром, располагаются ниже по оси SSC и левее по оси FSC, тогда как для нейтрофилов характерен не только больший размер, но и полиморфноядерность, а потому на диаграмме они располагаются выше и правее. Так, у больных I группы (CD19k+/CD5+/CD23+) в распределении опухолевых клеток наблюдалась морфологическая однотипность, что отражалось в низких показателях параметров светорассеяния на диаграмме: расположение левее по оси FSC – от 200 до 400 единиц /ниже по оси SSC – от 10 до 160 единиц. Во II группе (CD19λ+/CD5+/CD23+), напротив, на скеттограмме светорассеяния лимфоидная зона неоднородна и растянута: расположение правее по оси FSC – от 200 до 1000 единиц /выше по оси SSC – от 10 до 400 единиц, ближе к зоне моноцитов, что свидетельствует о морфологическом полиморфизме опухолевых клеток. Обращало на себя внимание то, что такая картина была характерна как для периферической крови, так и для костного мозга (рис. 4).

Отмечены также различия и в экспрессии общелейкоцитарного антигена CD45 как в крови, так и костном мозге: в I группе экспрессия выше – по интенсивности флуоресценции моноклональная популяция В-лимфоцитов находится на точечном графике по шкале CD45 во второй половине третьей декады и в четвертой декаде – правее, чем во II-й. В данной группе aberrantные В-лимфоциты по интенсивности флуоресценции на точечном графике по шкале CD45 лежат в третьей декаде – левее, чем в I-й (рис. 5).

Известно, что уровень экспрессии CD45 нарастает по мере дифференцировки гемопоэтических клеток от незрелых предшественников до зрелых форм: на точечных графиках клетки с минимальной экспрессией (бласты) лежат левее по шкале, промежуточное положение занимают клетки миелоидного ряда, зрелые лимфоциты с максимальной

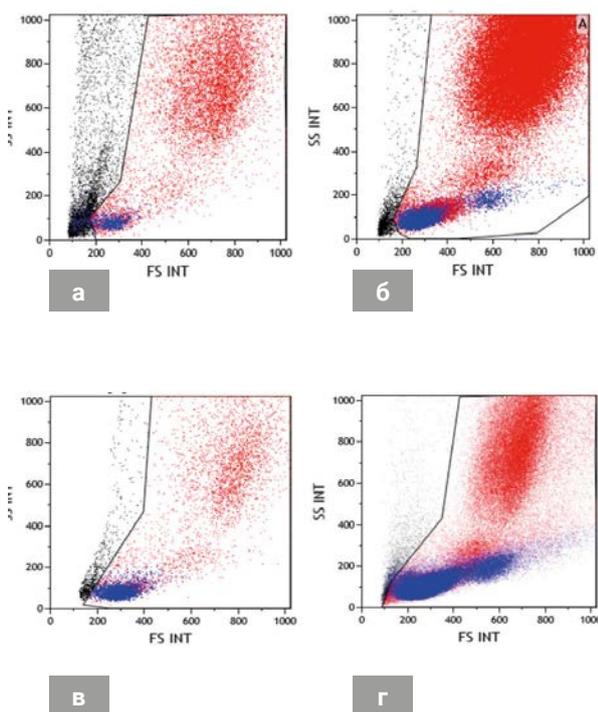


Рис. 4. Результаты иммунофенотипирования биологического материала больных ХЛЛ методом проточной цитометрии. Выделение лимфоцитарного гейта по параметрам каналов светорассеяния. Синим цветом выделена популяция патологических В-лимфоцитов: а – периферическая кровь пациента П. (I группа), б – периферическая кровь пациента Л. (II группа), в – костный мозг пациента П. (I группа), г – костный мозг пациента Л. (II группа).

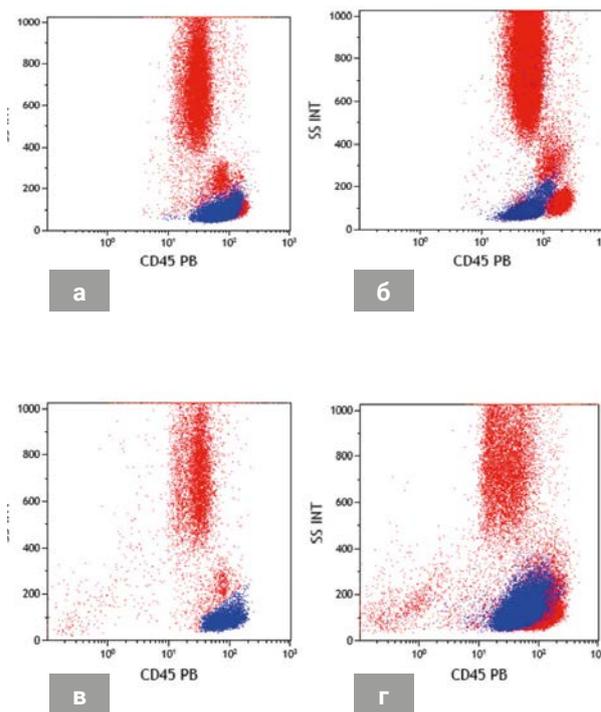


Рис. 5. Результаты иммунофенотипирования биологического материала больных ХЛЛ методом проточной цитометрии. Выделение гейта aberrantных В-лимфоцитов (синим цветом) по показателям экспрессии CD45 и бокового светорассеяния (SSC): а – периферическая кровь пациента П. (I группа), б – периферическая кровь пациента Л. (II группа), в – костный мозг пациента П. (I группа), г – костный мозг пациента Л. (II группа).

Таблица 1. Показатели общеклинического анализа крови у больных ХЛЛ (M±m)

Параметры лейкоцитарного профиля, %	Группы	
	I n=22	II n=8
Суммарное количество лейкоцитов, x 10 ⁹ /л	39,96±26,42	35,16±29,30
Миелоциты, %	0,18±0,01	0,50±0,044*
Нейтрофилы, %	22,05±3,46	15,00±1,41
Эозинофилы, %	0,86±0,049	0,42±0,038*
Базофилы, %	0,15±0,07	0,67±0,047*
Моноциты, %	2,92±0,31	4,92±0,12*
Пролимфоциты, %	-	8,05±1,73
Лимфоциты, %	72,98±5,76	70,50±7,87

Примечание: * – различия статистически значимы при p<0,05-0,001

ным уровнем экспрессии располагаются правее по шкале [16]. В этой связи очевидно, что в популяции CD19k+/CD5+/CD23+ опухолевый клон представлен зрелыми клетками, а в популяции CD19λ+/CD5+/CD23+ — менее зрелыми и/или промежуточными формами.

Данные общеклинического анализа крови свидетельствуют об отсутствии статистически значимых различий в уровне суммарного количества лейкоцитов и лимфоцитов у больных I и II групп ХЛЛ (табл. 1). В I группе WBC составил — $39,96 \pm 26,42 \times 10^9/\text{л}$, во II — $35,16 \pm 29,3 \times 10^9/\text{л}$ и варьировал в пределах от $10,4$ до $113,6 \times 10^9/\text{л}$ и от $14,51$ до $85,84 \times 10^9/\text{л}$, соответственно. Отмечается выраженный лимфоцитоз в периферической крови до $72,98 \pm 5,76\%$ в I группе и до $70,50 \pm 7,87\%$ во II. Однако во II группе, в отличие от I-й, определяются пролимфоциты, составляющие в среднем $8,05 \pm 1,73\%$ от общего уровня лейкоцитов.

В костном мозге больных ХЛЛ прослеживается выраженный лимфоцитоз на фоне угнетения гранулоцитарного и эритроидного ростков кроветворения. Отмеченные изменения более выражены во II группе (табл. 2). Содержание лимфоцитов в I группе составило $62,15 \pm 7,47\%$, во II — $76,10 \pm 8,76\%$ от общего числа миелокариоцитов.

Микроскопическое исследование мазков крови и костного мозга подтвердили установленные при иммунофенотипировании различия патологиче-

ской популяции лимфоидных клеток по параметрам светорассеяния. У пациентов I группы (рестрикция карра легких цепей иммуноглобулинов) лимфоидные клетки представлены мелкими однотипными клетками со скудной, чаще не визуализируемой цитоплазмой. Ядра имеют глыбчатую структуру хроматина, без отчетливых ядрышек (рис. 6).

Во II группе пациентов (рестрикция lambda легких цепей иммуноглобулинов) в препаратах крови и костного мозга размеры клеток лимфоидной популяции варьируются от малых до крупных, с ядрами округлой или складчатой формы, сглаженной структурой хроматина, 1–2 ядрышками, обильной цитоплазмой (рис. 7).

Итак, степень выраженности лимфоидной инфильтрации костного мозга и, как следствие, угнетение гранулоцитарного и эритроидного ростков кроветворения более выражены у пациентов II группы. Обращало на себя внимание различие морфологических характеристик популяций лимфоцитов в крови и костном мозге анализируемых групп больных.

Таким образом, совокупность результатов иммунофенотипирования и микроскопического исследования лимфоидной популяции продемонстрировала очевидные морфологические различия между опухолевыми клонами с различной рестрикцией легких цепей иммуноглобулинов (карра или lambda) у больных с ХЛЛ, что, несомненно, требует дальнейшего изучения.

Таблица 2. Показатели миелограммы у больных ХЛЛ (M±m)

Показатели	Группы	
	I n=22	II n=8
Миелокариоциты, в 1 мкл $\times 10^9/\text{л}$	100,68±42,98	104,76±58,82
НБК, %	2,21±0,72	2,98±0,42
Клетки гранулоцитарного ростка, %	27,63±3,36	14,76±3,92*
Моноциты, %	1,09±0,98	1,00±0,60*
Лимфоциты, %	62,15±7,47	76,10±8,76*
Мегакариоциты, %	0,20±0,06	0,20±0,05
Клетки эритроидного ростка, %	6,87±1,38	4,84±2,88

Примечание: * – различия статистически значимы при $p < 0,05-0,001$

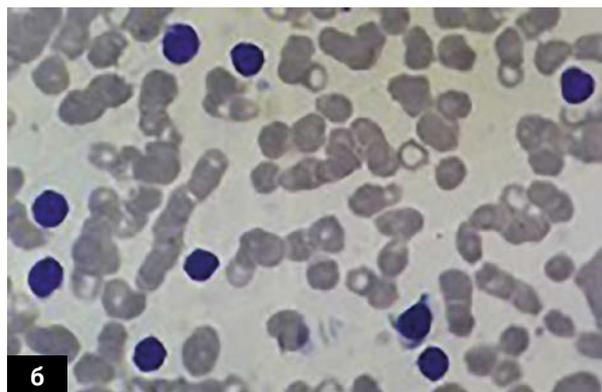
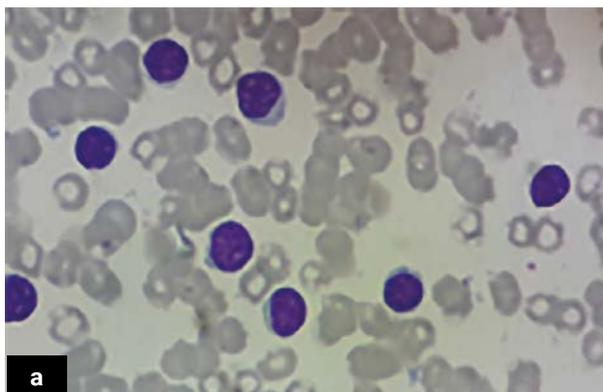


Рис. 6. а – периферическая кровь, б – костный мозг. Зрелые мономорфные лимфоциты с плотными по структуре ядрами. Окраска по Паппенгейму-Крюкову $\times 1000$.

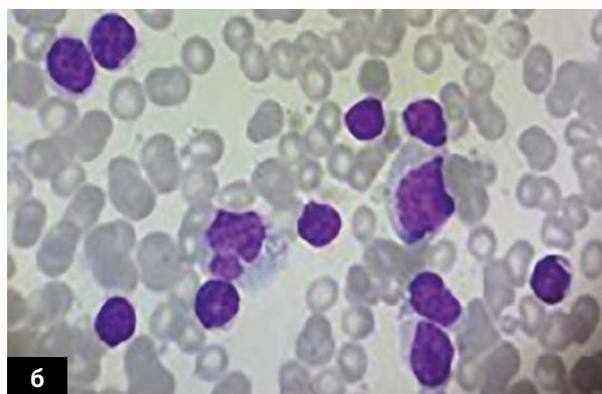
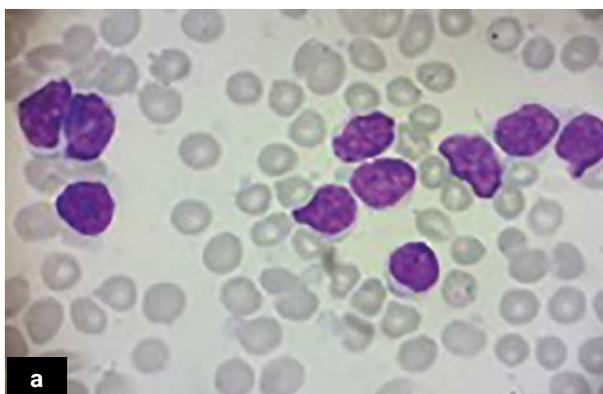


Рис. 7. а – периферическая кровь, б – костный мозг. Атипичные лимфоциты с широким ободком цитоплазмы, с ядрами округлой или складчатой формы. Окраска по Паппенгейму-Крюкову $\times 1000$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В исследовании установлены иммунофенотипические и морфологические различия лимфоидных популяций, экспрессирующих либо kappa-

либо lambda- легкие цепи иммуноглобулинов. Полученные данные чрезвычайно важны для выделения групп риска среди больных с биологически разнородными вариантами хронического лимфолейкоза (типичным и смешанно-клеточным).

Участие авторов:

Гуськова Н.К. – разработка дизайна исследования, выполнение морфологических исследований, систематизация и анализ полученных данных, написание текста рукописи, консультация.

Селютина О.Н. – выполнение цитофлуориметрических исследований, сбор клинического материала, систематизация и анализ полученных данных, обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи.

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

Максимов А.Ю. – анализ полученных данных, консультация.

Ноздричева А.С. – сбор клинического материала.

Абакумова С.В. – сбор клинического материала.

Список литературы

1. Войцеховский В.В., Заболотских Т.В., Целуйко С.С., Ландышев Ю.С., Григоренко А.А. Хронический лимфолейкоз. Благовещенск, 2015, 178.
2. Стадник Е.А., Стругов В.В., Вирц Ю.В., Зарицкий А.Ю. Хронический Лимфолейкоз. Рекомендации по диагностике и лечению. Бюллетень федерального центра сердца, крови и эндокринологии им. В.А.Алмазова. 2012;(6):5–15.
3. Войцеховский В.В., Ландышев Ю.С., Есенин В.В., Скрипкина Н.С., Есенина Т.В. Некоторые аспекты диагностики и лечения В-клеточного хронического лимфолейкоза. Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2007; 68(1):72–75.
4. Bennet JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Proposals for the classification of chronic (mature) B and T lymphoid leukaemias. French-American-British (FAB) Cooperative Group. *J Clin Pathol*. 1989 Jun;42(6):567–584. <https://doi.org/10.1136/jcp.42.6.567>
5. Шибинская А.В. Иммунологическая характеристика морфологических вариантов В-клеточного хронического лимфолейкоза: Дисс. ... канд. мед. наук. М., 2010; 122 с.
6. Кравченко Д.В., Свирновский А.И. Хронический лимфоцитарный лейкоз: клиника, диагностика, лечение. Гомель: ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ», 2017, 117 с.
7. Craig FE, Foon KA. Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. *Blood*. 2008 Apr 15;111(8):3941–3967. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-11-120535>
8. Катаева Е.В., Голенков А.К., Митина Т.А., Клинушкина Е.Ф., Трифонова Е.В., Высоцкая Л.Л. и др. Клинические аспекты определения свободных легких цепей иммуноглобулинов сыворотки крови у больных хроническим лимфолейкозом. *Гематология и трансфузиология*. 2017;62(3):153–157. <https://doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-3-153-157>
9. Maurer MJ, Cerhan JR, Katzmann JA, Link BK, Allmer C, Zent CS, et al. Monoclonal and polyclonal serum free light chains and clinical outcome in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2011 Sep 8;118(10):2821–2826. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-04-349134>
10. Katzman JA, Clark RJ, Abraham RS, Bryant S, Lymp JF, Bradwell AR, et al. Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and free lambda immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clin Chem*. 2002 Sep; 48(9):1437–1444.
11. Pratt G, Harding S, Holder R, Fegan C, Pepper C, Oscier D, et al. Abnormal serum free light chain ratios are associated with poor survival and may reflect biological subgroups in patients with chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 2009 Jan;144(2):217–222. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2008.07456.x>
12. Maurer MJ, Micallef INM, Cerhan JR, Katzmann JA, Link BK, Colgan JP, et al. Elevated serum free light chains are associated with event-free and overall survival in two independent cohorts of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2011 Apr 20;29(12):1620–1626. <https://doi.org/10.1200/JCO.2010.29.4413>
13. Marti GE, Rawstron AC, Ghia P, Hillmen P, Houlston RS, Kay N, et al. Diagnostic criteria for monoclonal B-cell lymphocytosis. *Br J Haematol*. 2005 Aug;130(3):325–332. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2005.05550.x>
14. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Döhner H, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. *Blood*. 2008 Jun 15;111(12):5446–5456. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-06-093906>
15. Гаврилина О.А., Звонков Е.Е., Судариков А.Б., Никулина Е.Е., Сидорова Ю.В., Бидерман Б.В. и др. Детекция В-клеточной клональности в костном мозге при диффузной В-крупноклеточной лимфоме. *Гематология и трансфузиология*. 2015;60(2):26–31.
16. Луговская С.А., Почтарь М.Е. Гематологический атлас. 4е издание, дополнительное. М.: ООО «Издательство «Триада», 2016, 434 с.

Информация об авторах:

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

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

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

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

Ноздричева Анастасия Сергеевна – биолог клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3336-9202>

Абакумова Светлана Владимировна – биолог клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2569-9922>



ПЕРВИЧНЫЕ КУЛЬТУРЫ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК: СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ И ПОДДЕРЖАНИЯ *IN VITRO*

И.В.Межевова*, А.О.Ситковская, О.И.Кит

ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России,
344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

РЕЗЮМЕ

В течение последних десятилетий перевиваемые клеточные линии являлись доступной моделью для изучения биологии и влияния химиотерапевтических препаратов на опухоли. Однако, многочисленные исследования показали, что данные клеточные линии недостаточно гетерогенны и не могут отражать лекарственную резистентность опухолей, возникающую у некоторых пациентов. Культуры первичных клеточных линий, выделенные из солидных опухолей, получили значительное распространение для определения химиочувствительности опухолей к препаратам, применяемым в химиотерапии. В данном обзоре рассматриваются основные методы получения и культивирования первичных клеточных линий. Дается краткая характеристика методикам дезагрегации опухолевого материала при помощи ферментативной, химической и механической диссоциации. Рассмотрены различные системы культивирования первичных клеточных культур. Выбор подходящего метода диссоциации и культивирования имеет важное значение для сохранения преимуществ первичной культуры в доклинических исследованиях.

Ключевые слова:

первичные культуры клеток, клеточные линии, методы диссоциации клеток, 2-D культуры, 3-D культуры, микрофлюидные платформы, эксплантаты

Для корреспонденции:

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

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

E-mail: mezhevoa88@gmail.com

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

SPIN: 3367-1741, AuthorID: 1011695

ResearcherID: AAI-1860-2019

Информация о финансировании: финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования:

И.В.Межевова, А.О.Ситковская, О.И.Кит Первичные культуры опухолевых клеток: современные методы получения и поддержания *in vitro*. Южно-российский онкологический журнал. 2020; 1(3): 36-49. <https://doi.org/10.37748/2687-0533-2020-1-3-4>

Получено 26.05.2020, Рецензия (1) 07.07.2020, Рецензия (2) 10.07.2020, Принята к печати 01.09.2020

PRIMARY TUMOR CELL CULTURES: CURRENT METHODS OF OBTAINING AND SUBCULTIVATION

I.V.Mezhevova*, A.O.Sitkovskaya, O.I.Kit

National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia,
63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

ABSTRACT

Over the past decades, transplantable cell lines have been an affordable model for studying the biology and effect of chemotherapeutic drugs on tumors. However, numerous studies have shown that these cell lines are not heterogeneous enough and cannot reflect the drug resistance of tumors that occurs in some patients. Primary cell line cultures isolated from solid tumors have become widespread in personalized cancer therapy. This review discusses the basic methods for the preparation and cultivation of primary cell lines. A brief description is given of the methods for the disaggregation of tumor material using enzymatic, chemical and mechanical dissociation. The systems of cultivation of primary cell cultures. The selection of an appropriate dissociation method and cultivation is important to preserve the benefits of primary culture in preclinical studies.

Keywords:

primary cell cultures, cell lines, method of cell dissociation, 2-D culture, 3-D culture, microfluidic platforms, explants

For correspondence:

Irina V. Mezhevova – junior researcher, laboratory of cell technologies National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation.

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

E-mail: mezhevova88@gmail.com

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

SPIN: 3367-1741, AuthorID: 1011695

Web of Science ResearcherID: AAI-1860-2019

Information about funding: no funding of this work has been held.

Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

For citation:

Mezhevova I.V., Sitkovskaya A.O., Kit O.I. Primary tumor cell cultures: current methods of obtaining and subcultivation. South Russian Journal of Cancer. 2020; 1(3): 36-49. <https://doi.org/10.37748/2687-0533-2020-1-3-4>

Received 26.05.2020, Review (1) 07.07.2020, Review (2) 10.07.2020, Accepted 01.09.2020

АКТУАЛЬНОСТЬ

Первичной культурой называют культуру клеток на стадии непосредственно после выделения клеток из образцов и до первого посева [1]. Культуры первичных опухолевых клеток представляют собой популяции *ex vivo*, выделенные хирургической резекцией фрагментов опухолевой ткани [2]. Первичные клеточные линии включают в себя как клетки опухоли, так и клетки микроокружения (фибробласты, Т-клетки, клетки эндотелия сосудов), играющие определенные роли в физиологии, структуре и функциях опухоли [3]. Опухоль и ее микроокружение способно вызывать взаимные изменения в фенотипе и функциях, поддерживающих непрерывный процесс канцерогенеза. Перевиваемые клеточные линии, полученные из небольшой доли опухолей, обычно очень агрессивных, являются наиболее распространенной *in vitro* моделью для исследований в онкологии. Однако, такие модели не обеспечивают представление всего спектра опухолевых субпопуляций. Первичные клеточные культуры отражают высокую гетерогенность клеток опухолей и представляют важный инструмент для исследований биологии опухолей и новых возможностей в персонализированной медицине в целом. Сохраняя клетки с фенотипами, подобными клеткам исходной опухоли, первичные клеточные линии играют важную роль в изучении механизмов химиорезистентности, поиска новых лекарственных веществ-кандидатов, что приобретает особую актуальность в доклинических исследованиях. Изучение взаимодействий между опухолевыми клетками и их микроокружением включает в себя разработку оптимальных моделей для исследования миграции и пролиферации опухоли [4]. В эпоху персонализированной терапии исследователям необходимо создание большего количества первичных опухолевых линий от пациентов, что обеспечит получение высококачественных данных для трансляции результатов *in vitro* в модели *in vivo* и, в конечном итоге, внедрение в клинику. В данном обзоре мы рассмотрим методы, доступные в настоящее время для генерации и культивирования первичных линий опухолевых клеток.

МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Выделение и культивирование опухолевых клеток в условиях *in vitro*, сходных с микроокружением

исходной опухоли, является сложной задачей и требует специальных методов. Успешное выделение опухолевых клеток с помощью подходящих технологий зависит от метода разрушения внеклеточного матрикса, который состоит из множества связанных между собой факторов (волокон соединительной ткани, гликопротеинов и тканеспецифичных белков). Дополнительные сложности в выделении первичной культуры клеток включают в себя наличие в образцах опухолевого материала:

1. клеточного дебриса и неопухолевых клеток, влияющих на пролиферацию опухолевых клеток, зачастую замедляя пролиферативную активность первичной культуры;

2. небольшого количества жизнеспособных клеток из-за резекции в некротической области;

3. фибробластов, активно пролиферирующих при культивировании [5].

На выделение достаточного количества жизнеспособных клеток и введение в первичную культуру оказывает влияние выбор подходящей методики диссоциации опухолевого материала. Существует несколько методов диссоциации материала и получения первичных клеточных линий из опухолей, однако очень немногие методы были признаны перспективными. Требуется разработка современных адаптированных под каждый вид опухолевой ткани методик для воспроизводимой генерации первичных клеточных линий из опухолей. В настоящее время для диссоциации опухолевых образцов используют такие методы, как механическая, химическая и ферментативная дезагрегация [6].

Ферментативная диссоциация

Ферментативная диссоциация является наиболее используемым методом для дезагрегации ткани и получения суспензии отдельных клеток опухоли, сохраняющая при этом их жизнеспособность и целостность. Обычно для диссоциации опухолей используют протеолитические ферменты, включая трипсин, папаин, эластазу, гиалуронидазу, коллагеназу, проназу и дезоксирибонуклеазу [7]. Некоторые исследователи используют смесь ферментов, например, комбинации коллагеназа/гиалуронидаза и раствор диспазы и ДНКазы для диссоциации образцов опухолей молочной железы [8]. В исследовании Volovitz et al. для ферментативной диссоциации тканей и опухолей головного мозга использовали нейтральную протеазу (NP) из *Clostridium histolyticum*, фермента,

ранее не использовавшегося в области нейробиологии. Диссоциация при воздействии протеазы позволила получить клеточную суспензию для введения в первичную культуру со значительно более высокой жизнеспособностью клеток по сравнению с ферментативным воздействием коллагеназы, ДНК-азы, папаина [9].

Использование трипсина и аккутазы в исследовании Skog et.al на аутодермальных трансплантах также показало получение клеток с большей жизнеспособностью после трипсинизации, но образцы, обработанные аккутазой, в дальнейшем лучше пролиферировали в первичной культуре. Не обнаружено существенного различия между средней интенсивностью флуоресценции маркеров стволовых клеток как после трипсинизации, так и после обработки аккутазой [10]. Для исследования первичных культур рака молочной железы Nishikata et.al использовали метод эксплантатов и получение суспензии клеток. Для диссоциации фрагмента опухоли использовали диспазу II. Наиболее эффективным методом для получения первичной культуры опухолей молочной железы признали получение суспензии клеток после диссоциации диспазой II [11]. Активно разрабатываются модели получения первичных культур нейронов головного мозга при помощи ферментативной диссоциации папаином для исследования клеточных и молекулярно-генетических особенностей функционирования головного мозга [12]. Внедряются протоколы перфузии фиброзной ткани печени мышей растворами проназы/коллагеназы и выделения звездчатых клеток печени мышей в первичную культуру [13].

Химическая диссоциация

Различные типы катионов поддерживают целостность клеточной поверхности и внутриклеточного структурного матрикса [7]. Химическая диссоциация — это процесс, при котором добиваются вымывания катионов Ca^{2+} и Mg^{2+} из эпителиальных клеток, уменьшая межклеточные взаимодействия. Удаление Ca^{2+} и Mg^{2+} лучше всего достигается при воздействии ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота) или комплексов тетрафенилборона с ионами калия, которые используются для диссоциации тканей печени, клеток кишечной крипты и солидных опухолей молочной железы [14]. Гипертонические растворы сахарозы, мальтозы, лактозы воздействуют на ще-

левые контакты и участки плотных контактов, что обуславливает наличие кластеров клеток после ферментативного расщепления ткани [15]. Некоторые исследователи проводят двойную перфузию клеток печени ЭДТА/коллагеназой для выделения и культивирования первичных гепатоцитов, культивируя их с добавлением инсулина и глюкозы [16]. Trojanek со своими коллегами успешно получили 14 первичных линий меланомы, используя опухолевый материал, полученный от 45 пациентов, болеющих меланомой. На образцы опухолей воздействовали ЭДТА и ДТТ (дитиотреитол) [17].

Механическая диссоциация

Существует несколько вариантов механической диссоциации опухолей: обычная ручная гомогенизация и различные автоматические диссоциаторы для суспензий отдельных клеток. Механическая диссоциация ткани включает в себя измельчение резецированного образца опухоли ножницами или острыми лезвиями, гомогенизацию (при помощи BD Medimachine, Becton Dickinson), фильтрацию через нейлоновые фильтры или фильтры со стальной сеткой (с различным диаметром пор), встряхивание, повторную аспирацию через серологические пипетки или любое сочетание этих методов. Обычно образцы опухоли сначала измельчают на небольшие кусочки (примерно 1–2 мм), а затем промывают в тканеспецифичной среде или растворах солей (растворе Хэнкса, Дальбекко) для удаления слабосвязанных клеток или неспецифического мусора путем легкого перемешивания. Таким образом получают суспензию отдельных клеток. Механическая диссоциация является простым, но эффективным методом для выведения первичных клеточных линий колоректального рака, полученных от первичных опухолей с эффективностью 39,4%, а также клеточных линий, выделенных из соответствующих метастазов в лимфатических узлах, с эффективностью до 70% [18]. Тем не менее, некоторые исследователи считают, что данный вид диссоциации опухолевой ткани с использованием механических методов приводит к значительной гибели клеток и не подходит для получения опухолевых клеток и введения их в первичную культуру [19].

Сравнивая механическую и ферментативную диссоциацию первичной глиобластомы, некоторые исследователи отдают предпочтение ферментативным методам, получая клетки с более высо-

кой миграционной активностью [20]. Qiu X et.al разработали микрофлюидное устройство, позволяющее проводить более мягкую механическую дезагрегацию клеток, используя сеть каналов и «гидродинамические скальпели» [21]. В исследовании Kar et.al успешно получали первичные клеточные линии рака яичника как с помощью механической диссоциации ткани, так и ферментативно с помощью Dispase II [22].

Собственные данные

Лабораторией клеточных технологий ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России проводилось изучение возможности применения коллагеназы из гепатопанкреаса краба для выделения опухолевых стволовых клеток молочной железы. Изучив воздействие коллагеназы в трех концентрациях и варианте без применения коллагеназы (использував только механический метод дезагрегации), получили более высокую концентрацию живых клеток при применении ферментативной дезагрегации [23].

В следующем исследовании использовали опухолевый материал, полученный от пациентов с астроцитарной опухолью. Диссекцию опухоли проводили хирурги отделения нейроонкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России под визуальным контролем с применением блока Blue E400 микроскопа Ormi Pentero™ и 5-АЛК (5-аминолевулиновой кислоты). Дезагрегацию опухолевой ткани осуществляли при комнатной температуре на BD Medimachine (Becton Dickinson, США) в стерильных Medicons (Becton Dickinson, США) с диаметром пор 50 мкм. В результате исследования были получены клеточные линии низкодифференцированной астроцитарной опухоли из материала после диссекции новообразования, также было показано, что данный метод является эффективным, так как обеспечивает возможность отбора материала с жизнеспособными клетками [24].

Проводили выделение опухолевых стволовых клеток из опухоли мозга для получения первичных клеточных линий. Первоначально ткань новообразования подвергали механической или ферментативной диссоциации. Механическую диссоциацию ткани опухолей осуществляли в BD Medimachine (Becton Dickinson) в растворе Хэнкса при комнатной температуре. Ферментативная диссоциация проводилась с применением набора реагентов Brain Tumor Dissociation Kit (Miltenyi Biotec)

в соответствии с инструкцией производителя. По результатам проведенных испытаний различных сочетаний приемов диссоциации ткани (использование набора или применение механической диссоциации) было установлено, что для опухолей мозга оптимальный результат достигался при применении ферментативного набора. Количество живых клеток при этом было в среднем меньше, чем при механической диссоциации, однако доля живых клеток была в 2 раза выше. Кроме того, ферментативная обработка ткани позволяла получить более однородную суспензию, в которой клетки хорошо разделялись и не образовывали конгломератов при последующих циклах центрифугирования и ресуспендирования.

СПОСОБЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ПЕРВИЧНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ

Существует несколько видов культивирования первичных клеточных линий после диссоциации ткани опухоли. Суспензию опухолевых клеток можно культивировать в 2D-культуре (монослой клеток), 3D-культуре (сфероиды, гели, скаффолды), используя микрофлюидные технологии, эксплантаты (культивирование фрагментов опухоли небольшого размера). После дезагрегации материала клетки культивируют в питательной среде, внося необходимые тканеспецифичные добавки, фетальную бычью сыворотку, аминокислоты, антибиотики. Питательные среды дополняют различными факторами, обнаруживаемыми *in vivo*. Для поддержания жизнеспособности, обеспечение сохранности генотипа и фенотипа опухолевых клеток *in vitro* в питательные среды вносят митогенные факторы роста [25].

2D культуры

2D-культурами называют обычные монослойные культуры, выращенные в условиях, не отражающих условия *in vivo*: физиологию тканей, микроокружение опухоли. Суспензию опухолевых клеток высевают на чашки Петри, культуральные планшеты или флаконы, проводя пассажи по мере образования первичной культурой монослоя. После выделения из ткани и перехода в 2D-условия морфология клеток изменяется, как и способ их деления. Изменение фенотипа клеток является результатом 2D культивирования, что может влиять на их функцию, организацию внутриклеточ-

ных структур, секрецию цитокинов и передачу сигналов клетками. Из-за нарушений во взаимодействии с внешней средой прикрепленные к поверхности пластика клетки теряют свою полярность, что приводит к изменению ответа этих клеток на индукторы апоптоза. Другим недостатком 2D-культуры является то, что клетки в монослое имеют неограниченный доступ к ингредиентам среды, таким как кислород, питательные вещества, метаболиты и сигнальные молекулы. Для клеток опухоли *in vivo* доступность питательных веществ, кислорода и т.д. является более изменчивой из-за естественной архитектуры опухолевой массы. Отмечается, что 2D-система изменяет экспрессию генов, биохимию клетки. Из-за многих недостатков 2D-систем культивирования клеточных линий возникла необходимость поиска альтернативных моделей. К достоинствам 2D культур относят простоту в работе и их низкую стоимость. Для выращивания 2D-культур опухолевых клеток используют специальный пластик с покрытием для монослойных клеточных линий или пластик, покрытый коллагеном, D-лизином или смесью различных компонентов [25].

3D культуры

3D-культивирование опухолевых клеток в настоящее время применяется в исследованиях, как в персонализированной медицине, так и в рамках регенеративной медицины. Данная технология наиболее точно отображает процессы, происходящие в опухоли *in vivo* и воссоздает фенотип опухоли, что является ценным инструментом для изучения биологии опухоли, а также позволяет проводить доклиническую оценку противоопухолевых лекарств-кандидатов на первичных клеточных линиях. В настоящее время наиболее часто используют модель, включающую в себя небольшие клеточные агрегаты – сфероиды – которые десятилетиями использовались онкологами [26]. Применение сфероидов клеточных культур для оценки эффективности противоопухолевых лекарств не является новой концепцией. В течение почти 50 лет анализ образования колоний в мягком агаре был золотым стандартом *in vitro* метода, используемого для установления статуса трансформации клеток, а также тестирования новых препаратов-кандидатов с низкой пропускной способностью [27]. На рисунке 1 – пример сфероидов, полученных в собственных исследованиях в Ла-

боратории клеточных технологий ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России.

Опухолевые сфероиды формируют, используя различные методы и приемы: метод «висячей капли»; культивирование на пластике с неадгезивным покрытием; с помощью скаффолдов: гидрогелей; применяя магнитные мешалки и биопечать.

Метод «висячей капли» изначально использовался в микробиологии для изучения и культивирования бактерий. Суспензию опухолевых клеток помещают на внутреннюю сторону крышки чашки Петри и накрывают чашку, содержащую фосфатно-солевой буфер для предотвращения высыхания капель. На кончике капли происходит агрегация клеток на границе раздела фаз воздух-жидкость и затем образуются сфероиды [28]. В этом методе не требуется использование каких-либо веществ в качестве матрикса или каркаса. Однако размер капель не должен быть слишком большим – капли с объемом жидкости более 50 мкл не прикрепятся к чашке Петри, поскольку поверхностное натяжение жидкости преодолевается под действием силы тяжести. Замену питательной среды необходимо проводить аккуратно, чтобы не повредить образовавшийся сфероид.

Пример протокола метода «висячей капли» для создания сфероидов (постоянные линии) указан в таблице 1 [29].

Используя метод «висячей капли» сфероиды можно поддерживать в культуре до нескольких недель.

Исследователями Jeppesen et. al. был разработан протокол получения сфероидов из образцов ткани колоректального рака (табл. 2).

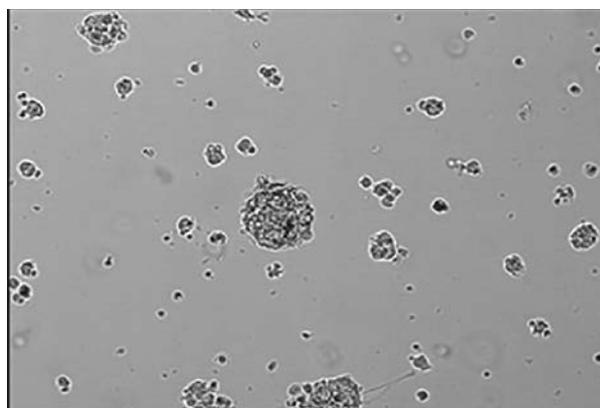


Рис. 1. Культура сфероидов, полученных из глиальной опухоли. Увеличение $\times 100$.

Из 18 аденокарцином, применяя данный протокол, сфероиды были успешно созданы для 15 образцов. Также проводили оценку принадлежности сфероидов первичной культуры колоректального рака к гистотипу исходной опухоли. Один из

подходов к повышению эффективности лечения заключается в определении химиочувствительности опухолевых клеток, полученных из материала пациента. Сравнение сфероидов с образцом первоначальной опухоли показало, что клетки

Таблица 1. Протокол метода «висячая капля».

№ п/п	Действие
Приготовление суспензии клеток	
1	Клеточные линии культивируйте до образования монослоя. Дважды отмойте клетки буфером ДПБС, деконтируйте жидкость. Добавьте 2 мл 0,05% трипсина – 1мМ ЭДТА, инкубируйте при 37 °С. Контролируйте открепление клеток. Внесите 2 мл полной питательной среды для инактивации трипсина. Ресуспендируйте клетки. Перенесите в центрифужную пробирку на 15 мл.
2	Внесите 40 мкл 10 мг/мл ДНКазы, инкубируйте в течение 5 минут при комнатной температуре. Встряхните пробирку, центрифугируйте при 200 г в течение 5 минут.
3	Удалите супернатант, промойте осадок 1 мл полной питательной средой. Повторите, затем ресуспендируйте клетки в 2 мл полной питательной среде.
4	Подсчитайте клетки с помощью гемоцитометра или автоматического счетчика клеток. Необходимая концентрация клеток – $2,5 \times 10^6$ в 1 мл.
Формирование «висячих капель».	
5	На дно чашки Петри 60 мм внесите 50 мл фосфатно-солевого буфера.
6	Снимите и переверните крышку с чашки Петри. Дозатором на 20 мкл поместите капли по 10 мкл питательной среды с клетками на дно крышки так, чтобы они не касались друг друга. На одной крышке располагается не менее 20 капель.
7	Аккуратно переверните крышку и закройте чашку Петри. Инкубируйте при 37°C, 5% CO ₂ , 95% влажности. Ежедневно микроскопируйте чашки, культивируйте до образования клеточных агрегатов.
8	После формирования агрегатов, их можно перенести в круглодонные стеклянные шейкеры в 3 мл полной питательной среды. Инкубируйте на встряхиваемой водяной бане при 37°C, 5% CO ₂ до образования сфероидов.

Таблица 2. Протокол получения сфероидов из образцов ткани колоректального рака.

№ п/п	Действие
1	Опухолевую ткань промойте в фосфатно-солевом буфере, содержащем антибиотики. Жировые и некротические участки удалите стерильными инструментами (скальпелем или ножницами).
2	Опухолевый материал измельчите на кусочки размером 1 ± 2 мм.
3	Внесите фосфатно-солевой буфер, содержащий 1 мг/мл коллагеназы типа II (Gibco) и антибиотики. Проведите инкубацию образца с ферментами в течение 20 минут при 37°C.
4	Пропустите суспензию ткани через несколько фильтров в следующей последовательности: фильтр 230 мкм (Sigma-Aldrich), 100 мкм (BD Biosciences), 40 мкм (BD Biosciences) и фильтр предварительного разделения 30 мкм (MACS, Miltenyi Biotec).
5	Образцы ткани, не прошедшие через фильтр 230 мкм, соберите и инкубируйте с коллагеназой (п.2) в течение 10 мин при 37°C. Пропустите через фильтры.
6	Фрагменты опухоли соберите с фильтров 100,40 и 30 мкм, разделите на три фракции в соответствии с размером отфильтрованных клеток.
7	Изолированные фрагменты опухоли культивируйте в среде для стволовых клеток (Thermo Fisher) с добавлением антибиотиков (200 ед/мл пенициллина, 200 мкг/мл стрептомицина, 100 мкг/мл гентамицина и 2,5 мкг/мл амфотерицина Б) в чашках Петри, покрытых агарозой (Sigma-Aldrich) при 37°C, 5% CO ₂ .

в культуре сохраняли гистологию аденокарциномы и паттерны экспрессии цитокератина 20 и раково-эмбрионального антигена. В данной работе скрининг химиочувствительности с использованием культур сфероидов пяти пациентов показал индивидуальные профили ответа на лекарственные препараты, что представляет собой многообещающую модель *in vitro* для использования в персонализированной медицине [30].

Монокультурные сфериды, получаемые в исследованиях рака молочной железы *in vitro*, называют маммосферами. Имеются данные о том, что источником метастазов являются клетки рака молочной железы с фенотипом, подобным стволовым клеткам. Культура маммосфер часто используется для изучения стволовых клеток рака молочной железы [31].

Исследователи Lombardo и др. разработали протокол для получения первичных маммосфер из опухолевой ткани молочной железы человека после мастэктомии (табл. 3) [32].

Halfter et al. сравнили химиочувствительность сфероидов, полученных из HER2-положительных клеточных линий рака молочной железы со сфероидными из 120 образцов свежих тканей. Их результаты показали большую эффективность выхода и более низкую метаболическую активность сфероидов, полученных из первичных культур по сравнению со сфероидными, полученными из клеточных линий [33].

Qureshy-Baig et al. сообщили, что сфериды первичного колоректального рака сохраняли свою хеморезистентность и генетические мутации по отношению к опухолевой ткани, из которой были выделены [34]. При исследовании колоректального рака Weiswald et.al. создали «колосферы», используя методику механической дезагрегации образца опухолевой ткани скальпелем и дробления его при помощи поршня шприца. Данную модель «колосфер» исследователи получили у 95% пациентов, успех культивирования такого типа сфероидов был связан с агрессивностью опухоли [35]. Jaganathan и его коллеги создали бескаркасную 3D-модель *in vitro* с использованием линий эпителиальных клеток рака молочной железы и фибробластов, культивируемых в инкубаторе на магнитной мешалке совместно с Nanoshuttles™. Фибробласты обнаруживались больше на периферии трехмерных структур, в то время как эпителиальные клетки находились в центре. В такой модели авторы старались воспроизвести гетерогенность опухолевого окружения, наблюдаемую *in vivo*, поэтому использовали фибробласты, имитируя таким образом внеклеточный матрикс. Обработка опухоли доксорубицином привела к угнетению роста полученной 3D-модели [36].

Культивирование в гелях

Взаимодействие клетки с внеклеточным матриксом (ВКМ) может модифицировать клеточ-

Таблица 3. Протокол получения маммосфер из опухолевой ткани молочной железы человека.

№ п/п	Действие
Опухолевый материал храните на холоде	
1	Перенесите образец в 100-мм чашку Петри. Удалите жировую ткань, используя стерильные инструменты.
2	Добавьте 2-3 мл DMEM/F12 и измельчите образец на кусочки размером около 1 мм ³ стерильным скальпелем.
3	Ресуспендируйте образцы опухоли в 10 мл DMEM, содержащей протеолитические ферменты (3000 Е/мл коллагеназы и 1000 Е/мл гиалуронидазы). Инкубируйте при 37°C в роторном шейкере, пока все фрагменты ткани не диссоциируют. Полная диссоциация занимает от 1 до 3 часов. Время диссоциации меняйте в зависимости от ткани. (Например, аденокарцинома молочной железы обычно труднее подвергается диссоциации по сравнению со слизистой карциномой). Оценку степени диссоциации проводите в гемоцитометре каждые полчаса.
4	Осаждайте фрагменты в течение 5 минут, затем перенесите супернатант в 15 мл коническую полипропиленовую пробирку и центрифугируйте при 200 г в течение 10 минут при комнатной температуре. Удалите надосадочную жидкость и ресуспендируйте клетки в 1-5 мл питательной среды для маммосфер (возможно использование специализированных питательных сред для выращивания опухолевых стволовых клеток или мезенхимных стволовых клеток).

ную организацию, функцию клеток и реакцию на терапию. В связи с этим возникает необходимость создания модели трехмерной культуры, повторяющей роль ВКМ *in vivo*.

В этом контексте применяют природные или синтетические гидрогели [27] природного происхождения (например, Matrigel™, коллаген, альгинат и фибрин), синтетические (например, полиэтиленгликоль или ПЭГ) и некоторые полусинтетические гидрогели, представляющие комбинацию синтетических и природных полимеров (например, гиалуронан, полипептиды) [30]. Клетки вносят в верхнюю часть матрикса после его затвердевания или смешивают с жидким гидрогелем. В обоих способах планшеты для культивирования клеток предварительно покрывают гидрогелем [37].

Примерами естественных каркасов являются Matrigel™ и коллаген. Matrigel™ представляет собой коммерческий ВКМ, в состав которого входят белки базальной мембраны из клеток опухоли мыши Engelbreth-Holm-Swarm (EHS), такие как коллаген IV, энтактин, ламинин перлекан, матриксная металлопротеиназа-2 и факторы роста, необходимые для поляризации, регуляции роста, химиотерапевтической устойчивости и адгезии клеток [38]. Коллаген – наиболее распространенный фибриллярный белок – в составе ВКМ обеспечивает прочность, регулирует клеточную адгезию и участвует в миграции клеток и хемотаксисе. В трехмерных культурах часто используют коллаген I типа, однако может применяться и коллаген II и III типа [39]. Как и Matrigel™, коллаген варьируется от партии к партии и имеет низкую жесткость. Помимо этого, природные гидрогели могут вызывать иммуногенные реакции [40]. Изменчивость свойств может влиять на воспроизводимость результатов и ограничивать использование таких каркасов для скрининга лекарственных средств. Чтобы преодолеть недостатки природных гидрогелей, были разработаны синтетические альгинатные гидрогели. Использование синтетического гидрогеля позволяет контролировать биохимические и механические свойства ВКМ. Существуют гидрогели на основе ПЭГ, в состав которых могут входить молекулы клеточной адгезии, пептиды или биоактивные природные полимеры (коллаген, фибрин) для усиления клеточной активности [41]. Природные и синтетические гидрогели имеют свои ограничения для повторного определения опухолевого ВКМ. В качестве альтернативы могут

быть использованы полусинтетические гидрогели. Полусинтетические гидрогели могут обеспечивать контролируемую среду. Гиалуронан – основной компонент естественного ВКМ – является биосовместимым, биоразлагаемым полимером, не вызывающим иммунных реакций. Он обладает высокой аффинностью к рецепторам клеточной поверхности, участвующим в пролиферации, адгезии, миграции и дифференцировке клеток [42].

Спонтанное образование сфероидов: метод неадгезивной поверхности

В этом методе применяют предварительно покрытые пластины, в которых нижняя поверхность является гидрофильной, заряжена нейтрально и ковалентно связана с поверхностью сосуда из полистирола. Это покрытие предотвращает адгезию клеток к поверхности, в результате чего клетки вынуждены находиться во взвешенном состоянии и, следовательно, образовывать трехмерные сфероиды. Покрытие стабильно, нецитотоксично и не разлагается. Однако существует проблема, связанная с образованием неоднородных сфероидов [37].

3D-каркасные системы

De et.al представили новую 3D-систему для культивирования циркулирующих опухолевых клеток (CTCs) *ex vivo* из образцов крови пациентов с раком молочной железы с использованием скаффолдов на основе поли-ε-капролактона (PCL). Было показано, что данную 3D-каркасную систему на основе PCL можно использовать для изучения циркулирующих опухолевых клеток [43].

Поскольку при культивировании в монослое клеточные линии рака молочной железы утрачивают профили экспрессии генов исходной опухоли, была разработана модель культивирования клеток первичного рака молочной железы путем децеллюляризации ассоциированных с опухолью фибробластов на трехмерных полимерных скаффолдах. Наличие внеклеточного матрикса, полученного из фибробластов опухоли, осажденного на поликапролактоновом каркасе, способствует прикреплению и жизнеспособности клеток, что связано с более высокими уровнями фосфорилированной киназы, которая обеспечивает прикрепление клеток через интегрины. Отдельные клетки первичного рака молочной железы самоорганизуются в опухолевые сфероиды при длительном культивировании. В такой модели ответ опухолей,

полученных от разных пациентов на химиопрепараты, значительно отличался от образца к образцу. Авторы предлагают использовать данную модель в качестве платформы *ex vivo* для культивирования первичных клеточных линий для разработки эффективных и персонализированных схем химиотерапии [44].

Метод магнитной левитации

В этом методе клетки выращивают до 80% конfluence, обрабатывают гидрогелями, содержащими магнитный оксид железа (МОЖ) и культивируют в течение ночи [45]. Обработанные клетки трипсинизируют и помещают в ультранизко прикрепленную пластину. Одновременно на верхнюю часть пластины прикрепляется крышка с неодимовым магнитом. Сфероиды начинают формироваться в течение нескольких часов на границе фаз воздух-жидкость из-за притяжения к магниту. Когда клетки агрегируют друг с другом, они начинают синтезировать белки ВКМ, такие как коллаген, фибронектин и ламинин. Сфероиды можно инкубировать в течение нескольких дней, пока они не достигнут необходимого размера для исследования. Этот метод имеет много преимуществ: скорость роста сфероидов высока по сравнению с более распространенными методами; сфероиды образуют собственный ВКМ (нет необходимости в искусственном каркасе); сфероиды имеют размер в диапазоне мм² (этот размер лучше воспроизводит некротическую и гипоксическую области, обнаруженные в опухолях); и, наконец, они не требуют специализированной питательной среды. К недостаткам относится высокая стоимость МОЖ, а также их возможная цитотоксичность.

Микрофлюидные платформы

Микрофлюидные платформы – это устройства, в которых живые клетки можно культивировать и постоянно вводить в камеры микрометрового размера. Этот метод позволяет точно контролировать клеточную среду, обеспечивая непрерывное выделение факторов роста или питательных веществ [46]. В простейшей системе одна микрофлюидная камера содержит один тип культивируемых клеток. Также возможно изучить взаимодействие между различными типами клеток, чтобы воссоздать границы между различными тканями. Для этого микро-каналы соединяют друг с другом через пористые мембраны,

выстланные на противоположных сторонах разных типов клеток (опухоль/орган на чипе). Цель состоит в том, чтобы создать среду, в которой разные типы клеток могут взаимодействовать друг с другом. Органы на чипе позволили нам воссоздать всю сложную структуру и окружающую среду, такие как кожа и волосы [47], легкие [48], печень [49] и кишечник [50]. Этот метод удобен для высокопроизводительного тестирования на различные препараты, но требует специального оборудования. Недавно было разработано двухслойное микрофлюидное устройство, позволяющее формировать, культивировать и тестировать препараты на 5000 сфероидов опухолей единого размера с различной геометрией камеры культивирования (200x200 м² и 300x300 м²) [51].

Эксплантаты

Метод культуры эксплантатов клеток подходит для разработки первичных опухолевых клеточных линий. Данная методика представляет собой культивирование небольших кусочков тканей опухоли (размером 2–5мм) в культуральной среде. Этот метод значительно облегчает сохранение нативной архитектуры тканей и микросреды, что более полно отражает взаимодействия в опухоли *in vivo*. Тем не менее, генетическая изменчивость может возникнуть и в перевиваемой культуре и сохраняться в средах, содержащих сыворотку. Кроме того, возможно изменение фенотипа клеток из-за неправильной ориентации эксплантата в культуральной среде. Этот метод требует последовательного субкультивирования для получения первичных опухолевых клеточных линий [6].

Методом прямой эксплантации индийским исследователям удалось получить первичные эпителиальные клетки ротовой полости с выходом до 90% без микробной экспансии в первичной культуре [52].

В исследовании Goldman et.al. предполагают наличие у опухолевых клеток динамической фенотипической гетерогенности, возникающей вследствие применения химиотерапии, вызывающей устойчивость к химиопрепаратам. Авторы использовали эксплантаты, выделенные из биопсийного материала пациентов с раком молочной железы для анализа клинических последствий метаболического перепрограммирования [53].

Baird et. Al. провели исследование STING-лиганда (лиганд, стимулирующий экспрессию гена интер-

ферона) на модели эксплантата от пациентов, перенесших резекцию по поводу рака головы и шеи для оценки реакции опухоли пациента на лиганд. Обработка лигандами STING приводила к статистически значимому увеличению секреции IFN- α в эксплантате [54].

Исследователи Muff et.al. считают, что метод эксплантата подходит для создания первичных клеточных линий саркомы костей и мягких тканей, полученных от пациента, что в свою очередь открывает возможности для молекулярного анализа и тестирования лекарств для такой гетерогенной группы опухолей [55].

Культуру солидных опухолей, основанную на эксплантатах, полученных от пациента (PDE), все чаще применяют для доклинической оценки новых терапевтических средств и для обнаружения биомаркеров. Используя масс-спектрометрию группа австралийских ученых определила степень поглощения энзалутамида в 11 эксплантах из образцов опухоли предстательной железы, полученных от 8 пациентов. При этом наблюдали неоднородную интенсивность сигнала химиопрепарата во всех образцах, более же высокую область сигнала лекарственного средства регистрировали в эпителиальной ткани образца с наибольшей концентрацией препарата [56].

PDE модель применяют и для изучения гормонозависимых опухолей, таких как рак предстательной железы и рак молочной железы. PDE культуры, полученные от пациентов с раком молочной или предстательной железы выращивали на желатиновой губке, что является высокопроизводительным и экономически эффективным методом, который сохраняет естественную архитектуру ткани, микросреду и ключевые онкогенные факторы [57].

В исследовании Ricciardelli et.al использовали тканевые фрагменты размером около 5 мм³ опухоли яичника после криоконсервации, полученные от пациентов. Было показано, что данный метод культивирования эксплантов с использованием даже предварительно криоконсервированной ткани позволяет получить жизнеспособные опухолевые клетки с исходным микроокружением опухоли для введения в первичную культуру [58].

Karekla et.al разработали платформу для оценки реакции на лекарственные препараты при немелкоклеточном раке легкого, что позволит проводить доклинические испытания новых ле-

карственных веществ-кандидатов. Исследователи предлагают использовать образцы опухолевой ткани, полученных непосредственно после операции. Авторами была описана оптимизированная модель культуры эксплантатов *ex vivo*, которая позволяет оценивать реакцию немелкоклеточного рака легкого на терапию при сохранении микроокружения опухоли [59].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В течение десятилетий золотым стандартом для доклинических исследований было использование клеточных линий. Однако продолжительное время, в течение которого клетки поддерживаются в монослое, субкультивирование клеточных линий, используемое для получения стабильного фенотипа, вносит вклад в изменение первоначального фенотипа клеточной популяции. Более тесное сотрудничество между клиницистами и исследователями, наряду с усовершенствованными лабораторными и методологическими подходами, привело к тому, что первичные клеточные линии стали многообещающей моделью в области исследований биологии опухоли, а также на данный момент открылись широкие перспективы применения данных культур в персонализированной медицине для доклинической оценки химиотерапевтических препаратов. Первичные клеточные линии обладают преимуществами сохранения исходного фенотипа и особенностей опухоли, ее микроокружения. Получение первичных культур является довольно сложным процессом в связи с небольшим количеством исходных опухолевых клеток, а также с частичной потерей жизнеспособности клеток после резекции опухоли и применения методов дезагрегации материала. Многие исследователи отдают предпочтение ферментативным методам диссоциации опухолевых тканей, так как механическая диссоциация является более «грубым» методом, при этом, возможно получение необходимого количества жизнеспособных клеток при применении двух методик одновременно. Традиционные 2D системы культивирования помогают изучать морфологию и функции опухолевых клеток, при этом происходит потеря важных компонентов межклеточного матрикса и межклеточных взаимодействий, значимых для дифференцировки и пролиферации клеток. 3D-культивирование первичных опухолевых линий позволяет создать условия культиви-

рования, близкие к условиям *in vivo*. Культивирование клеток в матрикеле улучшает интеграцию сигнальных путей в клетках, повышает экспрессию биомаркеров. Основанные на скаффолдах методы культивирования первичных клеточных линий приобретают важное значение, особенно в последние два десятилетия. Эти методы потенциально могут преодолеть некоторые ограничения современных трехмерных методов культивирования клеток, таких как неравномерное распределение клеток, неадекватная диффузия питательных веществ и неконтролируемый размер клеточных агрегатов. Применение скаффолдов позволяет получить мембрану для прикрепления, пролиферации и миграции опухолевых клеток. Культура эксплантатов является

перспективным методом получения первичных клеточных линий для применения в персонализированной медицине и использовании в доклинических исследованиях для оценки ответа опухоли на новые лекарственные препараты-кандидаты. Разрабатываются новые методы и подходы к выделению и получению из образцов опухолей первичных клеточных линий. Выбор метода диссоциации опухолевого материала и способа культивирования первичной клеточной линии обеспечивает возможность изучения биологии опухоли в различных её аспектах и представляет собой превосходный доклинический инструмент для исследования опухоли в системах *in vitro*.

Участие авторов:

Межевова И.В. – написание текста, техническое редактирование, оформление библиографии.

Ситковская А.О. – научное и техническое редактирование.

Кит О.И. – научное редактирование.

Список литературы

1. Фрешни Р.Я. Культура животных клеток. Практическое руководство. Перевод с 5-го английского издания. Москва: Бином. Лаборатория знаний, 2011.
2. Leithner K, Wohlokoenig C, Stacher E, Lindenmann J, Hofmann NA, Gallé B, et al. Hypoxia increases membrane metallo-endopeptidase expression in a novel lung cancer ex vivo model – role of tumor stroma cells. *BMC Cancer*. 2014 Jan 25;14:40. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-14-40>
3. Hanahan D, Coussens LM. Accessories to the crime: functions of cells recruited to the tumor microenvironment. *Cancer Cell*. 2012 Mar 20;21(3):309–322. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2012.02.022>
4. Shibue T, Weinberg RA. EMT, CSCs, and drug resistance: the mechanistic link and clinical implications. *Nat Rev Clin Oncol*. 2017 Oct;14(10):611–629. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2017.44>
5. Hirata E, Sahai E. Tumor Microenvironment and Differential Responses to Therapy. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2017 Jul 5;7(7). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a026781>
6. Mitra A, Mishra L, Li S. Technologies for deriving primary tumor cells for use in personalized cancer therapy. *Trends Biotechnol*. 2013 Jun;31(6):347–354. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2013.03.006>
7. Li W-C, Ralphs KL, Tosh D. Isolation and culture of adult mouse hepatocytes. *Methods Mol Biol*. 2010;633:185–196. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-019-5_13
8. Janik K, Popeda M, Peciak J, Rosiak K, Smolarz M, Treda C, et al. Efficient and simple approach to *in vitro* culture of primary epithelial cancer cells. *Biosci Rep*. 2016;36(6). <https://doi.org/10.1042/BSR20160208>
9. Volovitz I, Shapira N, Ezer H, Gafni A, Lustgarten M, Alter T, et al. A non-aggressive, highly efficient, enzymatic method for dissociation of human brain-tumors and brain-tissues to viable single-cells. *BMC Neurosci*. 2016 Jun 1;17(1):30. <https://doi.org/10.1186/s12868-016-0262-y>
10. Skog M, Sivilér P, Steinvall I, Aili D, Sjöberg F, Elmasry M. The Effect of Enzymatic Digestion on Cultured Epithelial Autografts. *Cell Transplant*. 2019;28(5):638–644. <https://doi.org/10.1177/0963689719833305>
11. Nishikata T, Ishikawa M, Matsuyama T, Takamatsu K, Fukuhara T, Konishi Y. Primary culture of breast cancer: a model system for epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cells. *Anticancer Res*. 2013 Jul;33(7):2867–2874.
12. Spaethling JM, Na Y-J, Lee J, Ulyanova AV, Baltuch GH, Bell TJ, et al. Primary Cell Culture of Live Neurosurgically Resected Aged Adult Human Brain Cells and Single Cell Transcriptomics. *Cell Rep*. 2017 17;18(3):791–803. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.12.066>
13. Mederacke I, Dapito DH, Affò S, Uchinami H, Schwabe RF. High-yield and high-purity isolation of hepatic stellate cells from normal and fibrotic mouse livers. *Nat Protoc*. 2015 Feb;10(2):305–315. <https://doi.org/10.1038/nprot.2015.017>
14. Castell JV, Gómez-Lechón MJ. Liver cell culture techniques. *Methods Mol Biol*. 2009;481:35–46. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-201-4_4
15. Ribatti D. A milestone in the study of the vascular system: Wilhelm Roux's doctoral thesis on the bifurcation of blood vessels. *Haematologica*. 2002 Jul;87(7):677–678.
16. Damm G, Schicht G, Zimmermann A, Rennert C, Fischer N, Kießig M, et al. Effect of glucose and insulin supplementa-

- tion on the isolation of primary human hepatocytes. *EXCLI J*. 2019;18:1071–1091.
<https://doi.org/10.17179/excli2019-1782>
17. Trojanec B, Niemitz S, Micka B, Lefterova P, Blasczyk R, Scheffold C, et al. Establishment and characterization of colon carcinoma and renal cell carcinoma primary cultures. *Cancer Biother Radiopharm*. 2000 Apr;15(2):169–174.
<https://doi.org/10.1089/cbr.2000.15.169>
18. Krbala L, Soukup J, Stanislav J, Hanusova V. Derivation and basic characterization of colorectal carcinoma primary cell lines. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2017 Dec;161(4):360–368.
<https://doi.org/10.5507/bp.2017.040>
19. Cunningham RE. Tissue disaggregation. *Methods Mol. Biol*. 2010;588:327–330.
https://doi.org/10.1007/978-1-59745-324-0_32
20. Skarkova V, Krupova M, Vitovcova B, Skarka A, Kasparova P, Krupa P, et al. The Evaluation of Glioblastoma Cell Dissociation and Its Influence on Its Behavior. *Int J Mol Sci*. 2019 Sep 18;20(18):4630. <https://doi.org/10.3390/ijms20184630>
21. Qiu X, De Jesus J, Pennell M, Troiani M, Haun JB. Microfluidic device for mechanical dissociation of cancer cell aggregates into single cells. *Lab Chip*. 2015 Jan 7;15(1):339–350. <https://doi.org/10.1039/c4lc01126k>
22. Kar R, Chawla D, Gupta B, Mehndiratta M, Wadhwa N, Agarwal R. Establishment of Primary Cell Culture From Ascitic Fluid and Solid Tumor Obtained From Epithelial Ovarian Carcinoma Patients. *Int J Gynecol Cancer*. 2017;27(9):2000–2005. <https://doi.org/10.1097/igc.0000000000001087>
23. Филиппова С.Ю., Ситковская А.О., Сагакянц А.Б., Бондаренко Е.С., Ващенко Л.Н., Кечеджиева Э.Э. и др. Выделение опухолевых стволовых клеток рака молочной железы с применением коллагеназы. *Современные проблемы науки и образования*. 2019;6:147.
24. Межева И.В., Ситковская А.О., Росторгуев Э.Е., Филиппова С.Ю., Нистратова О.В., Кузнецова Н.С. и др. Нейрохирургический подход для получения первичных клеточных линий глиальных опухолей. *Исследования и практика в медицине*. 2019;6(S):191.
25. Kapałczyńska M, Kolenda T, Przybyła W, Zajączkowska M, Teresiak A, Filas V, et al. 2D and 3D cell cultures – a comparison of different types of cancer cell cultures. *Arch Med Sci*. 2018 Jun;14(4):910–919. <https://doi.org/10.5114/aoms.2016.63743>
26. Burdett E, Kasper FK, Mikos AG, Ludwig JA. Engineering tumors: a tissue engineering perspective in cancer biology. *Tissue Eng Part B Rev*. 2010 Jun;16(3):351–359.
<https://doi.org/10.1089/ten.teb.2009.0676>
27. Sant S, Johnston PA. The production of 3D tumor spheroids for cancer drug discovery. *Drug Discov Today Technol*. 2017 Mar;23:27–36. <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2017.03.002>
28. Jørgensen A, Young J, Nielsen JE, Joensen UN, Toft BG, Rajpert-De Meyts E, et al. Hanging drop cultures of human testis and testis cancer samples: a model used to investigate activin treatment effects in a preserved niche. *Br J Cancer*. 2014 May 13;110(10):2604–2014.
<https://doi.org/10.1038/bjc.2014.160>
29. Foty R. A simple hanging drop cell culture protocol for generation of 3D spheroids. *J Vis Exp*. 2011 May 6;(51). <https://doi.org/10.3791/2720>
30. Jeppesen M, Hagel G, Glenthoj A, Vainer B, Ibsen P, Harling H, et al. Short-term spheroid culture of primary colorectal cancer cells as an in vitro model for personalizing cancer medicine. *PLoS ONE*. 2017;12(9): e0183074.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183074>
31. Ahmad A. Breast Cancer Metastasis and Drug Resistance. Challenges and Progress. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2019;1115:1–7.
<https://doi.org/10.1007/978-3-030-20301-6>
32. Lombardo Y, de Giorgio A, Coombes CR, Stebbing J, Castellano L. Mammosphere formation assay from human breast cancer tissues and cell lines. *J Vis Exp*. 2015 Mar 22;(97): 52671. <https://doi.org/10.3791/52671>
33. Hoffmann O, Ditsch N, Ahne M, Arnold F, Paepke S, et al. Testing chemotherapy efficacy in HER2 negative breast cancer using patient-derived spheroids. *J Transl Med*. 2016;14(1):112.
<https://doi.org/10.1186/s12967-016-0855-3>
34. Qureshi- Baig K, Ullmann P, Rodriguez F, Frasilho S, Nazarov PV, Haan S, et al. What Do We Learn from Spheroid Culture Systems? Insights from Tumorspheres Derived from Primary Colon Cancer Tissue. *PLoS ONE*. 2016;11(1): e0146052. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146052>
35. Weiswald L-B, Bellet D, Dangles-Marie V. Spherical cancer models in tumor biology. *Neoplasia*. 2015 Jan;17(1):1–15. <https://doi.org/10.1016/j.neo.2014.12.004>
36. Jaganathan H, Gage J, Leonard F, Srinivasan S, Souza GR, Dave B, et al. Three-dimensional in vitro co-culture model of breast tumor using magnetic levitation. *Sci Rep*. 2014 Oct 1;4:6468. <https://doi.org/10.1038/srep06468>
37. Hoarau- Véchet J, Rafii A, Touboul C, Pasquier J. Halfway between 2D and Animal Models: Are 3D Cultures the Ideal Tool to Study Cancer-Microenvironment Interactions? *Int J Mol Sci*. 2018 Jan 18;19(1):181.
<https://doi.org/10.3390/ijms19010181>
38. Kleinman HK, Martin GR. Matrigel: basement membrane matrix with biological activity. *Semin Cancer Biol*. 2005 Oct;15(5):378–386.
<https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2005.05.004>
39. Doyle AD, Carvajal N, Jin A, Matsumoto K, Yamada KM. Local 3D matrix microenvironment regulates cell migration through spatiotemporal dynamics of contractility-dependent adhesions. *Nat Commun*. 2015 Nov 9;6:8720.
<https://doi.org/10.1038/ncomms9720>
40. Tibbitt MW, Anseth KS. Hydrogels as extracellular matrix mimics for 3D cell culture. *Biotechnol Bioeng*. 2009 Jul 1;103(4):655–663. <https://doi.org/10.1002/bit.22361>

41. Tokuda EY, Jones CE, Anseth KS. PEG-peptide hydrogels reveal differential effects of matrix microenvironmental cues on melanoma drug sensitivity. *Integr Biol (Camb)*. 2017 23;9(1):76–87. <https://doi.org/10.1039/c6ib00229c>
42. Yu M, Jambhrunkar S, Thorn P, Chen J, Gu W, Yu C. Hyaluronic acid modified mesoporous silica nanoparticles for targeted drug delivery to CD44-overexpressing cancer cells. *Nanoscale*. 2013 Jan 7;5(1):178–183. <https://doi.org/10.1039/c2nr32145a>
43. De T, Goyal S, Balachander G, Chatterjee K, Kumar P, Babu K G, et al. A Novel Ex Vivo System Using 3D Polymer Scaffold to Culture Circulating Tumor Cells from Breast Cancer Patients Exhibits Dynamic E-M Phenotypes. *J Clin Med*. 2019 Sep 16;8(9):1473. <https://doi.org/10.3390/jcm8091473>
44. Nayak B, Balachander GM, Manjunath S, Rangarajan A, Chatterjee K. Tissue mimetic 3D scaffold for breast tumor-derived organoid culture toward personalized chemotherapy. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2019 Aug 1;180:334–343. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.04.056>
45. Nath S, Devi GR. Three-dimensional culture systems in cancer research: Focus on tumor spheroid model. *Pharmacol Ther*. 2016;163:94–108. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2016.03.013>
46. Whitesides GM. The origins and the future of microfluidics. *Nature*. 2006 Jul 27;442(7101):368–373. <https://doi.org/10.1038/nature05058>
47. Ataç B, Wagner I, Horland R, Lauster R, Marx U, Tonevitsky AG, et al. Skin and hair on-a-chip: in vitro skin models versus ex vivo tissue maintenance with dynamic perfusion. *Lab Chip*. 2013 Sep 21;13(18):3555–3561. <https://doi.org/10.1039/c3lc50227a>
48. Huh D, Matthews BD, Mammoto A, Montoya-Zavala M, Hsin HY, Ingber DE. Reconstituting organ-level lung functions on a chip. *Science*. 2010 Jun 25;328(5986):1662–1668. <https://doi.org/10.1126/science.1188302>
49. Powers MJ, Domansky K, Kaazempur-Mofrad MR, Kalezi A, Capitano A, Upadhyaya A, et al. A microfabricated array bioreactor for perfused 3D liver culture. *Biotechnol Bioeng*. 2002 May 5;78(3):257–269. <https://doi.org/10.1002/bit.10143>
50. Kimura H, Yamamoto T, Sakai H, Sakai Y, Fujii T. An integrated microfluidic system for long-term perfusion culture and on-line monitoring of intestinal tissue models. *Lab Chip*. 2008 May;8(5):741–746. <https://doi.org/10.1039/b717091b>
51. Patra B, Peng C–C, Liao W–H, Lee C–H, Tung Y–C. Drug testing and flow cytometry analysis on a large number of uniform sized tumor spheroids using a microfluidic device. *Sci Rep*. 2016 Feb 15;6:21061. <https://doi.org/10.1038/srep21061>
52. Shwetha HR, Kotrashetti VS, Babu NC, Kumbhar V, Bhat K, Reddy R. Ex vivo culture of oral keratinocytes using direct explant cell culture technique. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2019 Aug;23(2):243–247. https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_105_19
53. Goldman A, Khiste S, Freinkman E, Dhawan A, Majumder B, Mondal J, et al. Targeting tumor phenotypic plasticity and metabolic remodeling in adaptive cross-drug tolerance. *Sci Signal*. 2019 20;12(595). <https://doi.org/10.1126/scisignal.aas8779>
54. Baird JR, Bell RB, Troesch V, Friedman D, Bambina S, Kramer G, et al. Evaluation of Explant Responses to STING Ligands: Personalized Immunosurgical Therapy for Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Cancer Res*. 2018 01;78(21):6308–6319. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-18-1652>
55. Muff R, Botter SM, Husmann K, Tchinda J, Selvam P, Seeli-Maduz F, et al. Explant culture of sarcoma patients' tissue. *Lab Invest*. 2016;96(7):752–762. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2016.49>
56. Mutuku SM, Trim PJ, Prabhala BK, Irani S, Bremert KL, Logan JM, et al. Evaluation of Small Molecule Drug Uptake in Patient-Derived Prostate Cancer Explants by Mass Spectrometry. *Sci Rep*. 2019 18;9(1):15008. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51549-3>
57. Centenera MM, Hickey TE, Jindal S, Ryan NK, Ravindranathan P, Mohammed H, et al. A patient-derived explant (PDE) model of hormone-dependent cancer. *Mol Oncol*. 2018;12(9):1608–1622. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12354>
58. Ricciardelli C, Lokman NA, Sabit I, Gunasegaran K, Bonner WM, Pyragius CE, et al. Novel ex vivo ovarian cancer tissue explant assay for prediction of chemosensitivity and response to novel therapeutics. *Cancer Lett*. 2018 01;421:51–58. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2018.02.006>
59. Karekla E, Liao W–J, Sharp B, Pugh J, Reid H, Quesne JL, et al. Ex Vivo Explant Cultures of Non-Small Cell Lung Carcinoma Enable Evaluation of Primary Tumor Responses to Anticancer Therapy. *Cancer Res*. 2017 15;77(8): 2029–2039. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-16-1121>

Информация об авторах:

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

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

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

РЕДКИЕ ФОРМЫ НЕХОДЖКИНСКИХ ЛИМФОМ: ОПЫТ ТЕРАПИИ ПЕРВИЧНЫХ ЛИМФОМ КОСТЕЙ

И.Б.Лысенко*, А.А.Барашев, Т.О.Лаптева, Н.В.Николаева, Е.А.Капуза,
О.Н.Шатохина, Т.Ф.Пушкарева

ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России,
344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

РЕЗЮМЕ

К редким локализациям неходжкинских лимфом относят первичную лимфому костей. Эта форма составляет не более 1–2% всех неходжкинских лимфом взрослых. Диагноз первичной лимфомы костей устанавливают в случаях очагового поражения одной или нескольких костей. Кроме того, допускается вовлечение мягких тканей и регионарных лимфоузлов. Критерием исключения служит только поражение костного мозга и вовлечение отдаленных лимфоузлов. Первыми симптомами болезни являются некупируемые боли в костях, нередко сопровождающиеся локальным отеком, формированием опухолевой массы в зоне поражения, изредка присоединяются В-симптомы. Чаще встречается локальное (80%) и реже многофокусное (20%) поражение длинных трубчатых костей в области диафиза и метадиафиза. Диагностика поражения костной ткани при первичном и вторичном ее вовлечении основана на применении всех доступных методов исследования (рентгенография, компьютерная, магнитно-резонансная и позитронно-эмиссионная томография). Дифференциальная диагностика возможна только на основании иммуногистохимического исследования с определением экспрессии общего лейкоцитарного антигена, маркеров В-клеток, Т-клеток, а также клональности по одной из легких цепей иммуноглобулинов к или λ, bcl 2 и bcl 6, ALK, степени пролиферативной активности Ki-67. Оценка эффективности различных методов лечения первичной костной лимфомы осложняется небольшим числом наблюдений и отсутствием единой тактики лечения. В качестве терапии первой линии чаще применяют СНОР-подобные курсы. Персонализированная терапия включает иммуно-химиотерапию, лучевую терапию и применение хирургических методов лечения — эндопротезирования.

Ключевые слова:

неходжкинская лимфома, кости, диагностика, химиотерапия, эндопротезирование, длительность наблюдения

Для корреспонденции:

Лысенко Ирина Борисовна – д.м.н., профессор, заведующий отделением онкогематологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

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

E-mail: iralyss@rambler.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4457-3815>

SPIN: 9510-3504, AuthorID: 794669

Информация о финансировании: финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования:

Лысенко И.Б., Барашев А.А., Лаптева Т.О., Николаева Н.В., Капуза Е.А., Шатохина О.Н., Пушкарева Т.Ф. Редкие формы неходжкинских лимфом: опыт терапии первичных лимфом костей. Южно-российский онкологический журнал. 2020; 1(3): 50-59.

<https://doi.org/10.37748/2687-0533-2020-1-3-5>

Получено 04.06.2020, Рецензия (1) 07.07.2020, Рецензия (2) 15.07.2020, Принята к печати 01.09.2020

RARE FORMS OF NON-HODGKIN LYMPHOMAS: EXPERIENCE IN TREATMENT FOR PRIMARY BONE LYMPHOMAS

I.B.Lysenko*, A.A.Barashev, T.O.Lapteva, N.V.Nikolaeva, E.A.Kapuza, O.N.Shatokhina, T.F.Pushkareva

National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia,
63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

ABSTRACT

Primary bone lymphoma is a rare presentation of non-Hodgkin lymphoma. It accounts for a maximum of 1–2% of all non-Hodgkin lymphomas in adults. Primary bone lymphoma is diagnosed in focal lesions of one or more bones; soft tissue and regional lymph nodes may be involved too. The exclusion criteria are only bone marrow damage and involvement of distant lymph nodes. The first symptoms include intractable bone pain often accompanied by local edema, the formation of a tumor mass in the affected area; B symptoms occasionally join. Local lesions of long tubular bones in the diaphysis and metadiaphysis regions are more common (80%), while multifocal lesions are less frequent (20%). Diagnosis of lesions of the bone tissue in its primary and secondary involvement is based on the use of all available research methods (radiography; computed, magnetic resonance and positron emission tomography). Differential diagnosis requires an immunohistochemical study with determination of the expression of total leukocyte antigen, B-cell and T-cell markers, and clonality in one of immunoglobulin light chains κ or λ , bcl 2 and bcl 6, ALK, proliferative activity of Ki-67. Evaluation of the effectiveness of various treatments for primary bone lymphoma is complicated by a small number of observations and the absence of a uniform treatment strategy. CHOP-like chemotherapy cycles are often used as first-line therapy. Personalized therapy involves immunochemotherapy, radiation therapy and surgical treatment – endoprosthetics.

Keywords:

non-Hodgkin lymphoma, bones, diagnosis, chemotherapy, endoprosthesis, observation period

For correspondence:

Irina B. Lysenko – Dr. Sci. (Med.), professor, head of the department of hematology National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation.

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

E-mail: iralyss@rambler.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4457-3815>

SPIN: 9510-3504, AuthorID: 794669

Information about funding: no funding of this work has been held.

Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

For citation:

Lysenko I.B., Barashev A.A., Lapteva T.O., Nikolaeva N.V., Kapuza E.A., Shatokhina O.N., Pushkareva T.F. Rare forms of non-Hodgkin lymphomas: experience in treatment for primary bone lymphomas. South Russian Journal of Cancer. 2020; 1(3): 50-59. <https://doi.org/10.37748/2687-0533-2020-1-3-5>

АКТУАЛЬНОСТЬ

К редким локализациям неходжкинских лимфом можно отнести первичную лимфому костей. Эта нозологическая форма составляет не более 2–5% от всех первичных опухолей костей 4–5% всех экстра-нодальных лимфопролиферативных заболеваний, и 1–2% всех неходжкинских лимфом взрослых. До середины прошлого века лимфомами костей считались только случаи с локальным поражением одной кости без вовлечения мягких тканей и регионарных лимфоузлов. В современных условиях диагноз первичной лимфомы костей устанавливаются и в случаях очагового поражения нескольких костей. Кроме того, допускается вовлечение мягких тканей и регионарных лимфоузлов. Критерием исключения служит только поражение костного мозга и вовлечение отдаленных лимфоузлов. Первыми симптомами болезни являются не купируемые боли в костях, нередко сопровождающиеся локальным отеком, формированием опухолевой массы в зоне поражения, изредка присоединяются В-симптомы. Очень часто пациентов беспокоит ограничение движения конечности, возможны патологические переломы. Чаще это локальное (80%) и реже многофокусное (20%) поражение длинных трубчатых костей в области диафиза и метадиафиза. Костная локализация лимфомы встречается чаще у пациентов 60–70 лет, крайне редко бывает у детей младше 10 лет, соотношение мужчины: женщины составляет 1,5:1 [1–5].

Диагностика поражения костной ткани при первичном и вторичном ее вовлечении основана на применении всех доступных методов визуализации. Данные лучевых методов исследования (рентгенография, компьютерная — КТ, магнитно-резонансная — МРТ и позитронно-эмиссионная — ПЭТ-томография) при лимфомах костей переменны и неспецифичны, начальные изменения могут не выходить за пределы нормальных вариантов строения костной ткани. При рентгенографическом исследовании изменения могут быть представлены локальными литическими очагами с неровными краями с участками склеротических поражений в виде мелких множественных очажков по всей длине кости или диффузно-распространенным процессом с деструкцией кортикальной ткани и вовлечением прилежащих мягких тканей. Периостальная реакция встречается у 60% пациентов и характеризуется наличием пластинчатых или слоистых участков, располага-

ющихся вдоль длинной оси кости, чередующихся с нормальным периостом и служащих индикатором плохого прогноза. Затрудняют диагностику поражения костей по обзорным рентгенограммам изменения, близкие к различным вариантам нормы. В этих случаях более информативным исследованием служит МРТ. При T1-ВИ-режиме (ВИ – взвешенное изображение) МРТ лучше определяются гетерогенные сигналы низкой интенсивности, характерные для внутрикостных изменений, фиброза и поражения мягких тканей, так как он позволяет выявлять области с сигналом низкой интенсивности. T2-ВИ-режим более информативен при наличии гомо- и гетерогенных изменений высокой интенсивности, перитуморального отека, периостальной реакции и реактивных изменений костного мозга. Проведение МРТ с контрастированием позволяет обнаружить участки повреждения кости с повышенным накоплением контрастного препарата. КТ не является методом выбора в диагностике ПЛК и может быть использована только в сочетании с МРТ или ПЭТ. Тем не менее КТ позволяет на более ранних этапах болезни и в большем проценте случаев диагностировать секвестрацию и кортикальные эрозии [2, 3, 5–9].

Обязательным условием подтверждения диагноза лимфомы кости является выполнение открытой биопсии пораженного участка кости и/или мягкотканного компонента опухоли с гистологическим и иммуногистохимическим исследованием материала. При гистологическом исследовании операционного/биопсийного материала, как правило, выявляется диффузная пролиферация лимфоидных клеток средних и крупных размеров, расположенных в костной ткани между трабекулами и жировыми клетками костного мозга. Гистологические варианты различны, но в большинстве (60–80%) случаев встречается диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВККЛ), из которой 10% составляет центробластный вариант ДВККЛ и лимфобластная В-клеточная лимфома; к другим более редким вариантам относят фолликулярную лимфому, лимфому из клеток зоны мантии, ALK+крупноклеточную лимфому, НК/Т-клеточные лимфомы. Дифференциальная диагностика возможна только на основании иммуногистохимического исследования с определением экспрессии общего лейкоцитарного антигена (CD45 LCA), маркеров В-клеток (CD 19, CD 20, CD 79a, PAX5, MuM1), Т-клеток (CD 3, CD 4, CD

8, CD5), а также клональности по одной из легких цепей иммуноглобулинов κ или λ , bcl 2 и bcl 6, ALK, степени пролиферативной активности опухолевых клеток (Ki-67). Информативным является цитогенетическое исследование нативного материала для выявления характерных для лимфом хромосомных перестроек — транслокаций t(8;14)(q24; q32), t(11;14)(q13; q32) и t(14;18)(q32; q21), перестройки гена bcl 6 и выявление гиперэкспрессии циклина D1 методом полимеразной цепной реакции [3, 6, 10–12].

Оценка эффективности различных методов лечения первичной костной лимфомы затруднительна, поскольку основана на анализе ретроспективных данных за длительный промежуток времени. Анализ осложняется в значительной степени небольшим числом наблюдений и отсутствием единой тактики лечения. В качестве терапии первой линии чаще применяют СНОР-подобные курсы. Результаты лечения зависят от наличия факторов неблагоприятного прогноза: повышения активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в сыворотке, множественного поражения костей с вовлечением мягких тканей, наличия В-симптомов, размера опухоли 6 см и более, локализации в позвоночнике и костях таза, вовлечения регионарных лимфоузлов, которые снижают эффективность терапии [11]. Данные различных исследовательских групп сходятся во мнении, что при локальных (IE) стадиях лимфомы костей 5-летняя безрецидивная выживаемость после лучевой или химиолучевой терапии составляет 35–50% и 90–95% соответственно. При распространенных стадиях (IIE и IV) только ЛТ в принципе невозможна, а при проведении химиотерапии по программе СНОР 5-летняя безрецидивная выживаемость составляет 40–70%. Применение таргетных препаратов и первичная интенсификация ПХТ высокодозной химиотерапии с последующей аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток позволяет улучшить показатели выживаемости у пациентов с факторами риска [1, 3, 5, 9, 11–14].

Приводим клинические случаи первичных костных лимфом.

Описание клинического случая

По архивным данным ФГБУ НМИЦ онкологии Минздрава России за период 2009–2019 годов с первичной костной лимфомой было 4 пациента, 3 мужчины и 1 женщина, средний возраст — 43,5 лет (табл. 1). Все пациенты отмечали прямую связь раз-

вития опухоли с предшествующей травмой, среднее время между появлением первых симптомов (у всех больных это была локальная боль в конечности) до верификации составило 9,25 месяцев (4–16).

У мужчин опухоль локализовалась в левой бедренной кости, у женщины была поражена правая плечевая кость, у всех пациентов было многофокусное поражение кости и локальное вовлечение мягких тканей конечности. У трех пациентов была верифицирована В-крупноклеточная НХЛ, у одного пациента исходно была верифицирована В-клеточная лимфома из малых лимфоцитов, позднее при дополнительных исследованиях эта опухоль была отнесена к экстранодальной фолликулярной лимфоме 3А типа (табл. 1).

Распространенность процесса определялась с использованием КТ, МРТ-исследования, уточнялась ПЭТ-исследованием у двух пациентов (метод стал широко доступен в рутинной практике с 2016 года), так же всем пациентам проводилось стандартное клиническое обследование, включая трепанобиопсию костного мозга.

В качестве терапии первой линии у всех пациентов использовался R-СНОР/СНОЕР режим (ритуксимаб, циклофосфамид, винкристин, преднизолон, доксорубин, этопозид), после 6 циклов частичная ремиссия была достигнута у 3-х пациентов, у этих пациентов применялась консолидирующая лучевая терапия в суммарной дозе 40 Грей. У 1 пациента с неблагоприятными факторами прогноза В-крупноклеточной лимфомой после 6-ти циклов R-СНОЕР была определена прогрессия заболевания с ПЭТ-позитивной инфильтрацией в ткани легкого. Использование терапии второй линии (R-GDP 2 цикла, R-MINE 3 цикла) не принесло эффекта, у пациента имелась первичная рефрактерность к химиоиммунотерапии, сохранялась ПЭТ-позитивная (5 баллов по Deauville) опухолевая инфильтрация кости, мягких тканей левого коленного сустава, включая надколенник, а инфильтрация в легком регрессировала (табл. 1). У пациента отмечалось непрерывно-прогрессирующее течение, которое привело к летальному исходу. Время наблюдения за пациентом составило 14 месяцев.

Двум пациентам после завершения химиолучевого лечения по объективным показаниям было выполнено успешное эндопротезирование с восстановлением функций соответствующей конечности, время наблюдения за этими пациентами 83 и 95 месяцев (табл. 1).

Таблица 1. Характеристика больных первичной костной неходжкинской лимфомой				
Пациенты	A.	E.	C.	Ш.
Пол	муж	муж	муж	жен
Возраст, лет	55	29	27	63
Травма	+	+	+	+
Время от первых симптомов до установления диагноза, мес	9	8	16	4
Локализация	Левая бедренная кость, надколенник	Левая бедренная кость	Левая бедренная кость	Правая плечевая кость
Тип поражения	Многофокусное	Многофокусное	Многофокусное	Многофокусное
Мягкие ткани	+	+	+	+
Локальные л/у	Паховые, подвздошные	Внутрибазальный, подколенные	-	-
В-симптомы	+	+	-	-
ЛДГ	↑↑	↑	N	N
Стадия	IVB	IVB	IVA	IVA
Международный прогностический индекс (IPI)	Высокий промежуточный (3)	Низкий промежуточный (2)	Низкий риск (FLIPI -1)	Низкий промежуточный (2)
Гистологический тип опухоли	В-крупноклеточная	Экстранодальная В-крупноклеточная	В-клеточная лимфома из малых лимфоцитов Пересмотр экстранодальная ФЛ 3А тип	Экстранодальная диффузная В-крупноклеточная
ПЭТ при определении стадии	+	+	Не выполнялось	Не выполнялось
Терапия первой линии	R-CHOP 6	R-CHOP 6	R-CHOP 6	R-CHOP 6
Ответ на терапию первой линии	Прогрессия +легкое PET+	PET- полная ремиссия	Частичная ремиссия	Частичная ремиссия
ДГТ	-	40 Грей	40 Грей	40 Грей
Длительность ответа, мес	6	10	13	95
Рецидив/рефрактерность	Рефрактерность	-	Рецидив +легкое	-
Терапия 2-й линии	R-GDP 2/ R-MINE 3	-	R-B 3 - PD R-GDP 2 - PD	-
Ответ на 2-ю линию	PD PET+	-	PR	-
Хирургическое лечение	-	-	Эндопротезирование	Эндопротезирование
Время наблюдения, мес	14	10	83	95
Исход	умер	жив	жив	жива

Примечание: PET – позитронно-эмиссионная томография; ФЛ – фолликулярная лимфома; R-GDP – ритуксимаб 375 мг/м², гемцитабин 100 мг/м², цисплатин 100 мг/м², дексаметазон 40 мг; R-CHOP/CHOP – ритуксимаб 375 мг/м², циклофосфамид 750 мг/м², винкристин 1,4 мг/м², доксорубин 50 мг/м², преднизолон 100 мг/м², этопозид 100 мг/м²; R-MINE – ритуксимаб 375 мг/м², ифосфамид 1330 мг/м², месна 1330 мг/м², этопозид 65 мг/м², митоксантрон 8 мг/м²; R-B – ритуксимаб 375 мг/м², бендамустин 90 мг/м².

Три пациента с первичными костными лимфомами в настоящее время живы, среднее время наблюдения составляет 49 месяцев (4–95).

Для иллюстрации современных возможностей комплексной терапии редких форм неходжкинских лимфом с применением различных методик приводим более подробно следующий клинический случай.

Клинический случай 1

Пациентка Ш., женщина 63 лет.

Пациентка отмечала острое начало заболевания в декабре 2010 года, после незначительного ушиба появилась острая боль в правой верхней конечности, появились отек, ограничение движения руки, «синюшность руки». В течение месяца по месту жительства пациентку лечили от «тромбофлебита» без эффекта. В январе 2011 года была выполнена рентгенография правой верхней конечности и выявлены диффузные изменения правой плечевой кости, и с подозрением на «саркому» пациентку направили в НМИЦ онкологии. При комплексном обследовании в НМИЦ онкологии было выявлено остеодеструктивное поражение дистального метафиза правой плечевой кости (рис. 1).

МРТ-исследование демонстрировало многоузловое образование неоднородной протонной плотности с интра- и экстраоссальным ростом, с деструкцией кортикального слоя правой плечевой кости в области дистального метафиза и циркулярным экстраоссальным компонентом размерами 70x40x43 мм. сосуды главного сосудисто-нервного пучка плеча без убедительных данных вовлечения в опухолевый процесс. Остеосцинтиграфия определила очаг 63 мм, процент патологической гиперфиксации РФП — на уровне 70%. Других патологических очагов, поражения внутренних органов и костного мозга комплексное обследование не выявило.

Была выполнена открытая биопсия опухоли. В готовом гистологическом препарате фрагмент мышечно-фиброзной ткани с диффузной инфильтрацией лимфоидными элементами. Опухолевые клетки были крупного размера с большими полиморфными ядрами с неровными угловатыми контурами, с грубодисперсным хроматином и большими центрально или эксцентрично расположенными ядрышками, наличие клеток с многодольчатыми ядрами (рис. 2). Было выполнено иммуногистохимическое исследование с анти-

телами к рап СК AE1/AE3, S-100, CD20, CD79a, CD3, CD45LCA, BCL-6, BCL-2, MuM1, Ki-67—70% (рис. 3). В опухолевых клетках отмечалась экспрессия CD20 (мембранная реакция) (рис. 4), CD79a (цитоплазматическая реакция), MuM1 (ядерная реакция), BCL-6 (ядерная реакция в части клеток) (рис. 5), BCL-2 (цитоплазматическая реакция в большей части клеток). Заключение иммуногистохимического исследования — экстраодальная диффузная В-крупноклеточная лимфома (CD20+, MuM1+, BCL6+, BCL2+).

У пациентки до начала терапии в марте 2011 года случился патологический перелом нижней трети правой плечевой кости со смещением костных отломков и нарушенной функцией верхней конечности (рис. 6). На базе НМИЦ онкологии в отделении онкогематологии были проведены 6 циклов полихимиотерапии по схеме R-CHOP, достигнута частичная ремиссия (сохранялись участки деструкции в нижней трети плечевой кости), к сожалению функция руки не восстановилась. С целью консолидации в отделении лучевых методов лечения пациентке был проведен курс ДГТ 40 Грей на область опухолевого поражения. Нежелательных явлений во время терапии не отмечалось. Рентгенограмма правой плечевой кости, выполненная в июне 2011, показала консолидирующийся патологический перелом нижней трети правой плечевой кости с грубым угловым смещением на фоне костной структуры (рис. 7–8).

Костная мозоль была слабая, костные края отломков с признаками склерозирования. Заключение ортопеда — атрофический псевдоартроз (ложный сустав) эпиметафиза правой плечевой кости. У пациентки сохранялось нарушение функции верхней конечности, в связи с этим, для улучшения качества жизни, в ноябре 2013 года после подтверждения ремиссии заболевания



Рис.1. Пациентка Ш. Рентгенограмма правой плечевой кости до начала лечения.

пациентке было выполнены резекция нижней трети правой плечевой кости (рис. 9) и замещение дефекта эндопротезом локтевого сустава PROSPON (рис. 10–11).

Гистологический анализ удаленной кости: костный мозг представлен жировой тканью; между костными балками мелкие немногочисленные лимфоцитарные инфильтраты. Заживление про-

шло в стандартные сроки, функция правой верхней конечности восстановилась в полном объеме. В январе 2019 года после травмы (падение с высоты собственного тела с опорой на правую руку) пациентка вновь обратилась с жалобами на боли в правой руке. Рентгенография правого локтевого сустава в 2-х проекциях показала рентгенологические признаки нестабильности ножки эндопро-

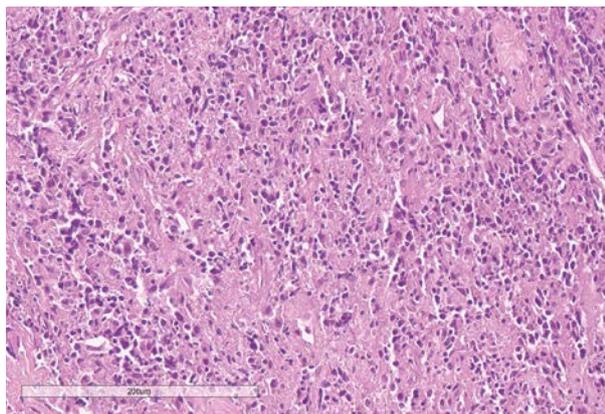


Рис. 2. Пациентка Ш. Гистопрепарат кости, гематоксилин ×200.

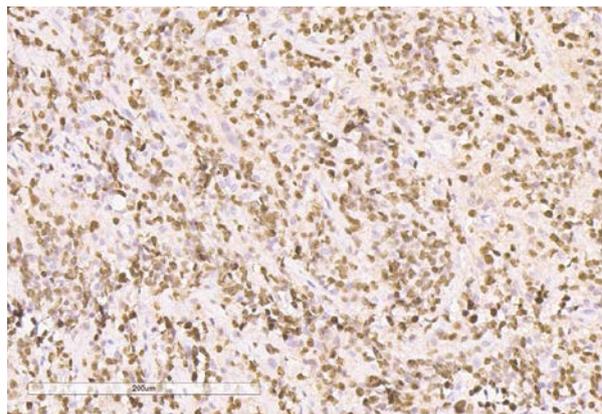


Рис. 3. Пациентка Ш. Гистопрепарат кости, экспрессия Ki67×200.

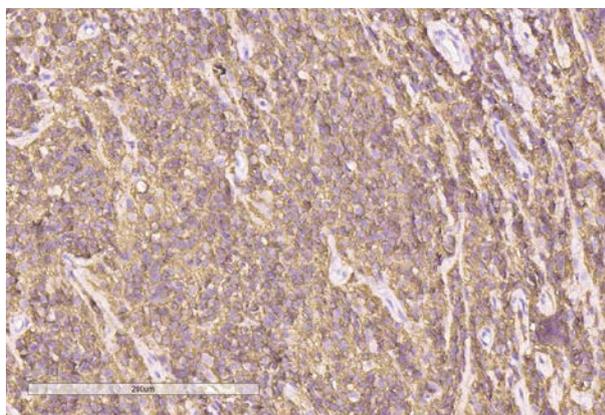


Рис. 4. Пациентка Ш. Гистопрепарат кости, экспрессия CD2×200.

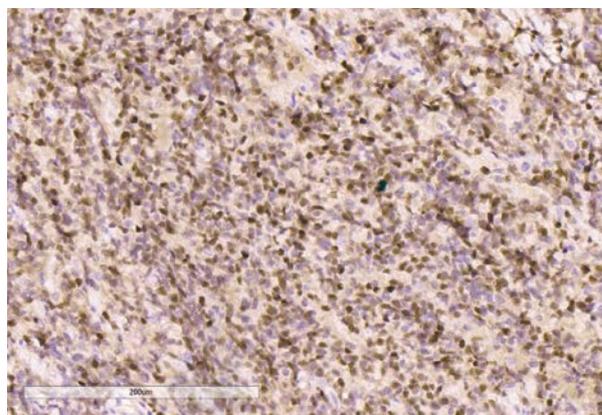


Рис. 5. Пациентка Ш. Гистопрепарат кости, экспрессия BCL6×200.



Рис. 6. Пациентка Ш. Рентгенограмма правой плечевой кости. Патологический перелом.



Рис. 7. Пациентка Ш. Рентгенограмма правой плечевой кости, после ПХТ.

теза в локтевой кости. Проведенное комплексное обследование подтвердило ремиссию заболевания. И в апреле 2019 года пациентке было выполнено успешное реэндопротезирование правого локтевого сустава. В настоящее время пациентка жива, функция конечности восстановлена полностью. Время общего наблюдения за пациенткой составляет 95 месяцев.



Рис. 8. Пациентка Ш. Рентгенограмма правой плечевой кости, после ПХТ.

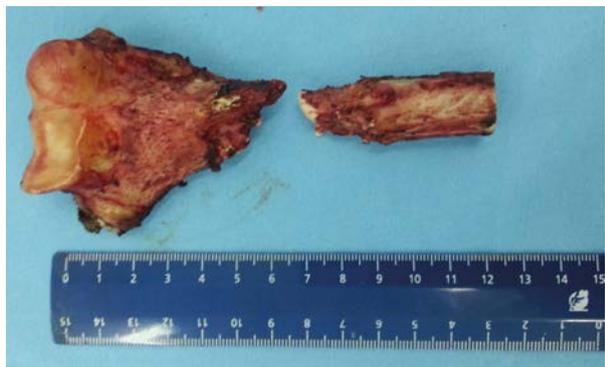


Рис. 9. Пациентка Ш. Удаленный макропрепарат правой плечевой кости.



Рис. 10. Пациентка Ш. Рентгенограмма правого локтевого сустава после эндопротезирования (боковая проекция).

ОБСУЖДЕНИЕ

Изученные литературные данные и собственный клинический опыт подтверждают, что первичные лимфомы костей крайне редкая форма лимфопролиферативных заболеваний, многие исследования основаны на ретроспективном анализе клинического материала. Мы за десять лет наблюдали



Рис. 11. Пациентка Ш. Рентгенограмма правого локтевого сустава после эндопротезирования (прямая проекция).

всего 4 случая первичной лимфомы костей. Общие принципы диагностики этой формы лимфомы основаны на принципах обследования всех пациентов с онкогематологическими заболеваниями. В определении тактики лечения первичной костной лимфомы, несомненно, главенствующую роль играют распространенность процесса и иммуногистохимический вариант опухоли. Ряд исследователей проводили на начальных этапах резекцию кости и мягких тканей, вовлеченных в процесс, но столкнулись с проблемой быстрого рецидива. Можно согласиться с другими исследователями, что на данном этапе развития болезни хирургическая агрессия является излишней и вмешательство должно быть ограничено биопсией [2, 11].

Поскольку все лимфомы, и первичные лимфомы костей в том числе, все же высокочувствительные к химиотерапии новообразования, то первичную ремиссию можно достичь более чем у 80–95% пациентов. Многие исследователи в качестве базовой терапии используют СНОР-подобные режимы и достигают 5-летней бессобытийной выживаемости 40–95% пациентов в зависимости от распространенности исходного процесса. Такой выбор может быть основным в группах пациентов с локальным поражением кости, без факторов риска. Коллеги из ФГБУ ГНЦ Минздрава России широко применяют терапию продвинутых стадий лимфомы применяя интенсивную программу mNHL-BFM-90 и достигают 5-летней безрецидивной выживаемости 92% [5, 12, 13].

В нашем наблюдении у пациента с неблагоприятным подвидом ДВКЛ и большим распространением процесса отмечалось рефрактерное течение заболевания. Возможно у пациентов с исходно неблагоприятным прогнозом следует применять более агрессивную тактику полихимиотерапии. Пациенты с более благоприятными иммунотипами лимфом демонстрировали лучший ответ на

лечение и живы по настоящее время с хорошим качеством жизни. В нашей рутинной практике мы разделяем позицию исследователей, применяющих консолидирующую лучевую терапию у пациентов с первичной лимфомой костей [3, 5].

Среди пациентов, которых мы наблюдали, двое пациентов из-за имевшихся патологических переломов и нарушения функции соответствующей конечности значительно ухудшающее качество жизни были подвергнуты успешному эндпротезированию. Наш клинический опыт позволяет рекомендовать использование данного метода хирургического лечения у пациентов в ремиссии первичной костной лимфомы, как опции, восстанавливающей жизненные потребности пациента.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при подозрении на лимфому костей пациент должен быть обследован с использованием всех доступных современных методов исследования для определения степени распространенности опухолевого процесса, включая ПЭТ-исследование. Обязательна биопсия опухоли с проведением иммуногистохимического исследования. Следует отметить, что локальное поражение костей чаще протекает относительно благоприятно. При нарушении функции конечности, неудовлетворительном качестве жизни и наличии клинических показаний в комплексе лечебных мероприятий, и наш опыт этому подтверждение, в период ремиссии заболевания применимы хирургические методы терапии, в частности эндопротезирование для восстановления качества жизни пациентов. Для пациентов с распространенными стадиями лимфомы костей основным методом терапии является полихимиотерапия с таргетными препаратами.

Участие авторов:

Лысенко И.Б. – концепция и дизайн исследования, научное редактирование, написание текста.

Барашев А.А. – выполнение операций, подготовка иллюстраций, интерпретация данных, научное редактирование.

Лаптева Т.О. – интерпретация данных, подготовка иллюстраций, научное редактирование, техническое редактирование.

Николаева Н.В. – сбор данных, научное редактирование

Капуза Е.А. – сбор данных.

Шатохина О.Н. – сбор данных.

Пушкарева Т.Ф. – сбор данных.

Список литературы

- Messina C, Ferreri AJM, Govi S, Bruno-Ventre M, Gracia Medina EA, Porter D, et al. Clinical features, management and prognosis of multifocal primary bone lymphoma: a retrospective study of the international extranodal lymphoma study group (the IELSG 14 study). *Br J Haematol*. 2014 Mar;164(6):834–840. <https://doi.org/10.1111/bjh.12714>
- Zinzani PL, Carrillo G, Ascani S, Barbieri E, Tani M, Paulli M, et al. Primary bone lymphoma: experience with 52 patients. *Haematologica*. 2003 Mar;88(3):280–285.
- Ramadan KM, Shenkier T, Sehn LH, Gascoyne RD, Connors JM. A clinicopathological retrospective study of 131 patients with primary bone lymphoma: a population-based study of successively treated cohorts from the British Columbia Cancer Agency. *Ann Oncol*. 2007 Jan;18(1):129–135. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdl329>
- Jacobs AJ, Michels R, Stein J, Levin AS. Socioeconomic and demographic factors contributing to outcomes in patients with primary lymphoma of bone. *J Bone Oncol*. 2015 Mar;4(1):32–36. <https://doi.org/10.1016/j.jbo.2014.11.002>
- Смолянинова А.К., Габеева Н.Г., Мамонов В.Е., Татарникова С.А., Горенкова Л.Г., Бадмаджапова Д.С. и др. Первичные лимфомы костей: долгосрочные результаты проспективного одноцентрового исследования. Клиническая онкогематология фундаментальные исследования и клиническая практика. 2019;12(3):247–262. <https://doi.org/10.21320/2500-2139-2019-12-3-247-262>
- Martinez A, Ponzoni M, Agostinelli C, Hebeda KM, Matutes E, Peccatori J, et al. Primary bone marrow lymphoma: an uncommon extranodal presentation of aggressive non-hodgkin lymphomas. *Am J Surg Pathol*. 2012 Feb;36(2):296–304. <https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e31823ea106>
- Wang Y, Xie L, Tian R, Deng Y, Zhang W, Zou L, et al. PET/CT-based bone-marrow assessment shows potential in replacing routine bone-marrow biopsy in part of patients newly diagnosed with extranodal natural killer/T-cell lymphoma. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2019 Oct;145(10):2529–2539. <https://doi.org/10.1007/s00432-019-02957-5>
- Sugisawa N, Suzuki T, Hiroi N, Yamane T, Natori K, Kiguchi H, et al. Primary bone malignant lymphoma: radiographic and magnetic resonance images. *Intern Med*. 2006;45(9):665–666. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.45.1638>
- Ильин И.В., Тлостанова М.С., Ходжибекова М.М., Костеников Н.А., Тютин Л.А., Виноградова Ю.Н. и др. Клиническая оценка значения позитронно-эмиссионной томографии всего тела с 18F-ФДГ при злокачественных лимфомах (обзор литературы). Клиническая онкогематология фундаментальные исследования и клиническая практика. 2010;3(2):130–137.
- Новосёлова К.А., Владимиров Л.Ю., Лысенко И.Б., Абрамова Н.А., Сторожакова А.Э., Попова И.Л. и др. Морфофункциональная характеристика гемопозитической ткани больных лимфомами. Злокачественные опухоли. 2018;8(2):5–11. <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2018-8-2-5-11>
- Barbieri E, Cammelli S, Mauro F, Perini F, Cazzola A, Neri S, et al. Primary non-Hodgkin's lymphoma of the bone: treatment and analysis of prognostic factors for Stage I and Stage II. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2004 Jul 1;59(3):760–764. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2003.11.020>
- Govi S, Christie D, Mappa S, Marturano E, Bruno-Ventre M, Messina C, et al. The clinical features, management and prognosis of primary and secondary indolent lymphoma of the bone: a retrospective study of the International Extranodal Lymphoma Study Group (IELSG #14 study). *Leuk Lymphoma*. 2014 Aug;55(8):1796–1799. <https://doi.org/10.3109/10428194.2013.853298>
- Clemons MJ, Dranitsaris G, Ooi WS, Yogendran G, Sukovic T, Wong BYL, et al. Phase II trial evaluating the palliative benefit of second-line zoledronic acid in breast cancer patients with either a skeletal-related event or progressive bone metastases despite first-line bisphosphonate therapy. *J Clin Oncol*. 2006 Oct 20;24(30):4895–4900. <https://doi.org/10.1200/JCO.2006.05.9212>
- Christie D, Dear K, Le T, Barton M, Wirth A, Porter D, et al. Limited chemotherapy and shrinking field radiotherapy for Osteolymphoma (primary bone lymphoma): results from the trans-Tasman Radiation Oncology Group 99.04 and Australasian Leukaemia and Lymphoma Group LY02 prospective trial. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2011 Jul 15;80(4):1164–1170. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2010.03.036>

Информация об авторах:

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

Барашев Артем Андреевич – к.м.н., врач отделения опухолей мягких тканей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7242-6938>, SPIN: 4590-5745, AuthorID: 697517

Лаптева Татьяна Олеговна – врач-патологоанатом высшей категории патологоанатомическое отделение ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6544-6113>, SPIN: 2771-3213, AuthorID: 849370

Николаева Надежда Владимировна – д.м.н., врач отделения онкогематологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7224-3106>, SPIN: 4295-5920, AuthorID: 733869

Капуза Елена Анатольевна – врач-онколог отделения онкогематологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0761-2486>, SPIN: 4430-1151, AuthorID: 794666

Шатохина Ольга Николаевна – врач-онколог отделения онкогематологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5071-6993>, SPIN: 7073-4259, AuthorID: 734373

Пушкарева Татьяна Федоровна – врач-онколог клинико-диагностического отделения ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. SPIN: 8047-6830, AuthorID: 801681

РЕЗОРБЦИЯ КОСТНОГО ЛОСКУТА ПОСЛЕ КОСТНОПЛАСТИЧЕСКОЙ КРАНИОТОМИИ В ПЛАНОВОЙ НЕЙРОХИРУРГИИ (СЛУЧАЙ ИЗ ПРАКТИКИ)

Э.Е.Росторгуев*, Н.С.Кузнецова, Г.Н.Ядрышникова

ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России,
344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

РЕЗЮМЕ

Костно-пластическая краниотомия, предполагающая выпиливание свободного костного лоскута для осуществления доступа к патологическому интракраниальному очагу с его реимплантацией в конце оперативного вмешательства, является неотъемлемой частью плановых операций в современной нейрохирургической практике.

Завершение плановой нейрохирургической операции установкой костного лоскута в трепанационное окно с использованием различных методик фиксации в условиях отсутствия выраженного отека головного мозга или опухолевой деструкции кости является стандартной процедурой и обеспечивает восстановление формы черепа, ликвородинамики и перфузии головного мозга.

По данным литературы, частота развития асептического воспаления с последующей резорбцией костного лоскута после выполнения костно-пластической краниотомии в плановой нейрохирургии четко не определена. Проведенный анализ базы медицинских публикаций PUBMED указывает на единичные сообщения о резорбции костного лоскута после выполнения плановой костно-пластической краниотомии. При анализе в отечественной базе E-Library сообщений о резорбции костного лоскута после плановых костно-пластических краниотомий не обнаружено.

Вследствие ограниченного числа сообщений о резорбции костного лоскута после выполнения костно-пластической краниотомии в плановой нейрохирургии на данный момент остается неясной патофизиология данного процесса.

Тем не менее, представленное осложнение костно-пластической краниотомии может привести к дислокации костного лоскута, развитию локального болевого синдрома, косметическому дефекту, нарушению ликвородинамики.

В статье описывается пример частичной резорбции костного лоскута после костно-пластической краниотомии, по поводу удаления менингиомы верхнего сагиттального синуса в средней трети, что в последующем в свою очередь потребовало проведения ряда повторных нейрохирургических вмешательств. Лечение завершилось удалением частично резорбированного костного лоскута с последующей имплантацией индивидуально изготовленного сетчатого титанового имплантата.

Ключевые слова:

осложнения костнопластической трепанации, осложнения костно-пластической краниотомии, резорбция краниального костного лоскута, краниопластика, пострезекционный дефект, доступы в нейрохирургии, осложнения в нейрохирургии

Для корреспонденции:

Росторгуев Эдуард Евгеньевич – к.м.н., заведующий отделением нейроонкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

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

E-mail: ed.rost@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2937-0470>

SPIN: 8487-9157, AuthorID: 794808

Scopus Author ID: 57196005138

Информация о финансировании: финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования:

Росторгуев Э.Е., Кузнецова Н.С., Ядрышникова Г.Н. Резорбция костного лоскута после костнопластической краниотомии (случай из практики). Южно-российский онкологический журнал. 2020; 1(3): 60-66. <https://doi.org/10.37748/2687-0533-2020-1-3-6>

Получено 19.10.2019, Рецензия (1) 21.10.2019, Рецензия (2) 29.02.2020, Принята к печати 01.09.2020

BONE FLAP RESORPTION AFTER CRANIOTOMY IN ELECTIVE NEUROSURGERY (CASE STUDY)

E.E.Rostorguev*, N.S.Kuznetsova, G.N.Yadryshnikova

National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia,
63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

ABSTRACT

Craniotomy is an integral part of modern elective neurosurgery which involves cutting a free bone flap to provide access to pathological intracranial structures with its reimplantation at the end of surgery.

Bone flap grafting in the trepanation window with various fixation methods in the end of elective neurosurgery in the absence of severe cerebral edema or cancer-induced bone destruction is a standard procedure that restores the skull shape, cerebrospinal fluid dynamics and cerebral perfusion.

According to the literature, the incidence of aseptic inflammation with subsequent resorption of the bone flap after craniotomy in elective neurosurgery is not clearly defined.

An analysis of medical publications in the PUBMED database showed few reports of bone flap resorption after elective craniotomy, and no reports were found after the search in the eLibrary database.

Thus, the number of reports on the bone flap resorption after craniotomy in elective neurosurgery is limited, and the pathophysiology of this process remains unclear.

However, the described complication of craniotomy can lead to the dislocation of a bone flap, the development of a local pain syndrome, a cosmetic defect, and disturbances in cerebrospinal fluid dynamics.

The article describes an example of partial resorption of a bone flap after craniotomy for the removal of meningioma in the middle third of the superior sagittal sinus, which required a number of repeated neurosurgical interventions. The treatment was finished with the removal of a partially resorbed bone flap and implantation of an individual titanium mesh implant.

Keywords:

complications of osteoplastic trepanation, complications of craniotomy, resorption of a cranial bone flap, cranioplasty, postresection defect, accesses in neurosurgery, complications in neurosurgery

For correspondence:

Eduard E. Rostorguev – Cand. Sci. (Med.), head of the department of neuro-oncology, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, 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

Information about funding: no funding of this work has been held.

Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

For citation:

Rostorguev E.E., Kuznetsova N.S., Yadryshnikova G.N. Bone flap resorption after complications of in elective neurosurgery (case study). South Russian Journal of Cancer. 2020; 1(3): 60-66. <https://doi.org/10.37748/2687-0533-2020-1-3-6>

Received 19.10.2019, Review (1) 21.10.2019, Review (2) 29.02.2020, Accepted 01.09.2020

По данным литературы, основное внимание уделяется анализу факторов риска резорбции аутокости, подвергнутой консервации, длительному хранению в различных средах и температурных режимах в связи с невозможностью завершения оперативного вмешательства установкой костного лоскута (отек головного мозга, декомпрессивная краниэктомия). В данных условиях риск резорбции костного лоскута может достигать 23% [1, 2, 3].

В плановой нейрохирургии костно-пластическая краниотомия (КПК) предполагает выпиливание свободного костного лоскута для осуществления доступа к патологическому очагу с последующей его фиксацией в конце оперативного вмешательства. При анализе базы медицинских публикаций PUBMED были выявлены единичные сообщения о резорбции костного лоскута после плановой КПК [4, 5, 6]. При анализе отечественной базы E-Library сообщений о резорбции костного лоскута после плановой КПК не обнаружено.

Далее мы приводим клинический случай частичной резорбции костного лоскута после плановой КПК, что в перспективе потребует несколько оперативных вмешательств.

Клинический случай

Пациентка С., 1981 года рождения, с декабря 2017 г. предъявляет жалобы на головные боли, гемигипестезию справа. При выполнении МРТ головного мозга в январе 2018 была выявлена менингиома верхнего сагиттального синуса в средней трети слева, размерами 41x51x45 мм. (рис. 1). При поступлении пациентке была выполнена спиральная компьютерная томография (СКТ) шеи, органов грудной клетки, брюшной полости и малого таза: патологии не обнаружено не было.

В январе 2018 г. в ФГБУ РНИОИ выполнена КПК в теменной области, удаление менингиомы (Simpson I). Произведено иссечение твердой мозговой оболочки (ТМО) с опухолевой тканью. Выполнена пластика оболочки с использованием искусственной ТМО «Durepair Regeneration Matrix Medtronic». Продолжительность операции составила 240 минут. Костный лоскут не изменен, уложен в трепанационное окно, фиксирован по периметру с помощью нерезорбируемых краниофиксов Medtronic.

При выполнении контрольной СКТ на 1 сутки после операции геморрагических послеоперационных осложнений не выявлено, подапоневротическое

скопление ликвора не определяется. В костном режиме определяется удовлетворительная позиция костного лоскута (рис. 2). Послеоперационный период без особенностей. Гистологическая верификация — менинготелиоматозная менингиома.

Через 5 месяцев после первичного оперативного вмешательства пациентка стала предъявлять жалобы на подвижность костного лоскута. При осмотре область послеоперационного рубца без признаков воспаления, пальпаторно определяется нестабильность костного лоскута. При дополнительном обследовании маркеры воспаления в крови не определяются: количество лейкоцитов в норме, палочкоядерные лейкоциты не повышены, юные формы и миелоциты не определяются, уровень CRP не повышен, прокальцитонинный тест отрицательный. При бактериологическом исследовании крови рост микрофлоры не получен. При выполнении СКТ определяется эпидуральное скопление ликвора в левой теменной области. В костном режиме диспозиции костного лоскута нет. Определялся диастаз по периметру костного лоскута (рис. 3). Выполнена рефиксация костного лоскута с помощью краниофиксов Medtronic. Визуально костный лоскут не отличался от костей черепа. Наличие подвижности лоскута было расценено, как недостаточная фиксация с помощью краниофиксов. При выполнении контрольной СКТ послеоперационных осложнений не выявлено, в костном режиме определялся удовлетворительная позиция костного лоскута (рис. 4). Послеоперационная рана зажила первичным натяжением, без признаков воспаления.

С января 2019 г. пациентка вновь стала отмечать люфт костного лоскута, чувство «хруста» при пальпации левой теменной области. При выполнении СКТ определяются участки резорбции костного лоскута (рис. 5). Физикальный осмотр вновь определяет подвижность костного лоскута. Кожные покровы над лоскутом и послеоперационный рубец не изменены (рис. 5). Маркеры воспаления в крови не определяются.

В феврале 2019 года было выполнено удаление костного лоскута в левой теменной области. Интраоперационно определялся подвижность костного лоскута, очаги деструкции. Костный лоскут синюшного цвета (рис. 5). При бактериологическом исследовании рубцовой ткани, окружающей костный лоскут, и костного лоскута рост микрофлоры не получен. При гистологическом исследовании в костной ткани выявлены неспе-

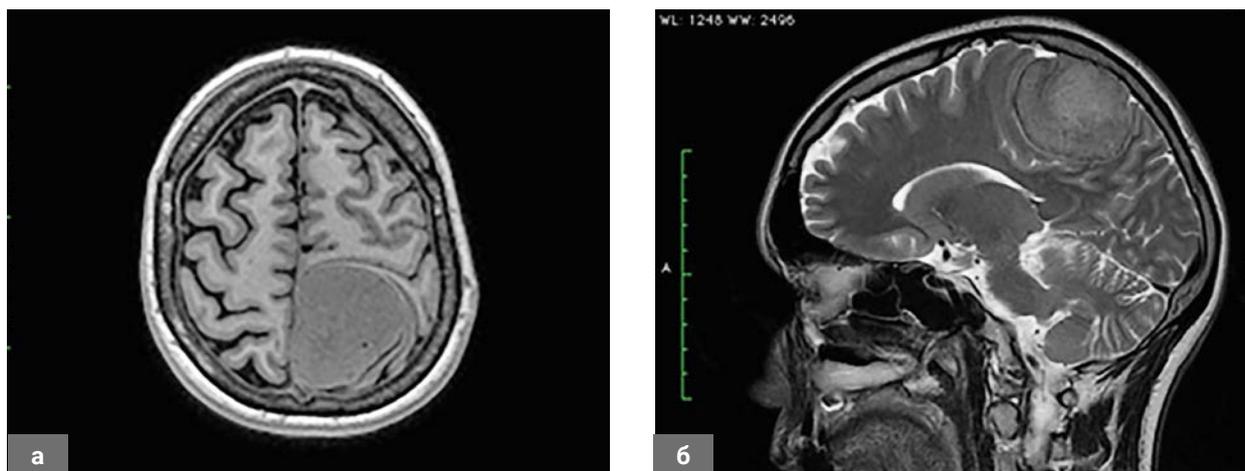


Рис. 1. На дооперационной МРТ головного мозга от 01.2018 г. определяется фалькс менингиома левой теменной доли: а – аксиальная проекция в режиме T1; б – сагиттальная проекция в режиме T2.

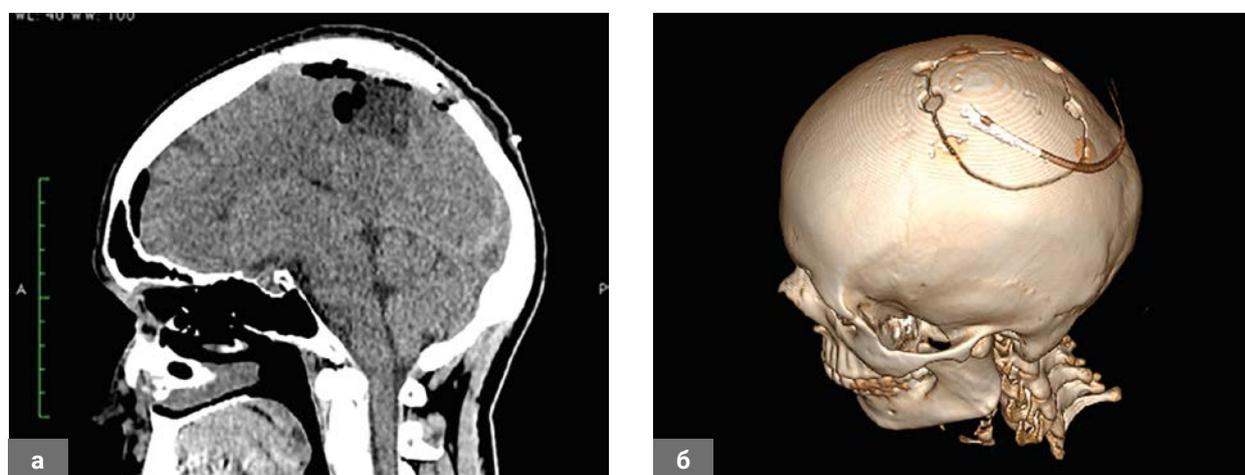


Рис. 2. Послеоперационная СКТ головного мозга: а – послеоперационных гемorragических осложнений нет; б – при 3D реконструкции в костном режиме определяется удовлетворительное стояние костного лоскута.

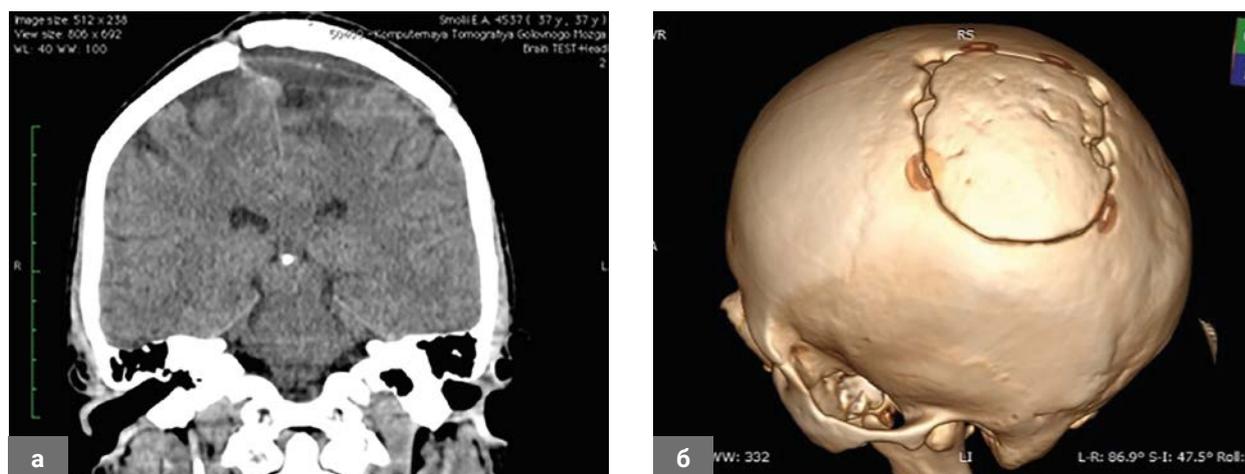


Рис. 3. СКТ головного мозга через 5 месяцев после операции: а – определяется эпидуральное скопление ликвора в левой теменной области в проекции костного лоскута; б – при 3D реконструкции определяется частичная резорбция костного лоскута по линии костного пропила.

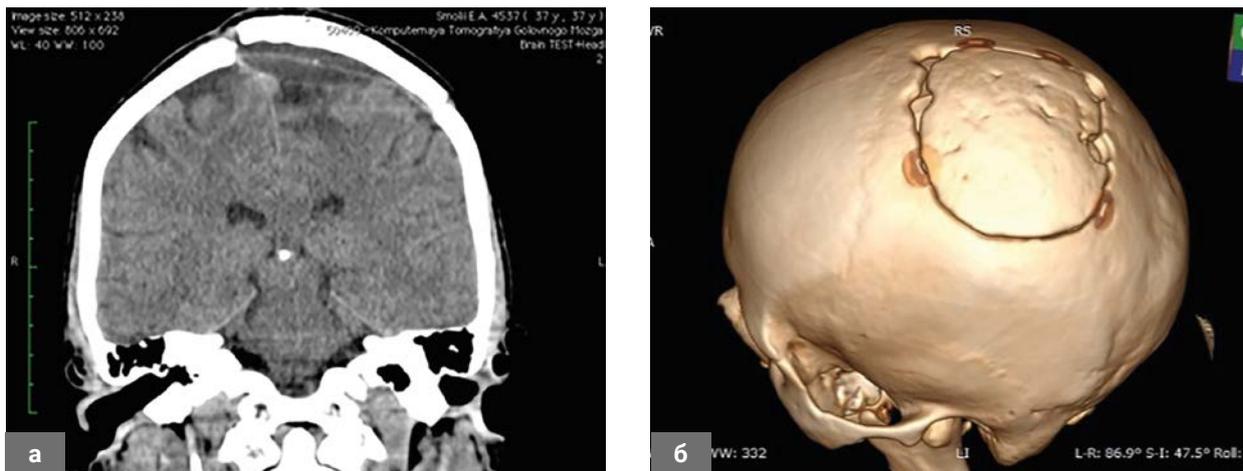


Рис. 4. Послеоперационная СКТ головного мозга после операции рефиксации костного лоскута с помощью краниофиксов Medtronic: а – послеоперационных геморрагических осложнений нет; б – при 3D реконструкции в костном режиме определяется удовлетворительное стояние костного лоскута.

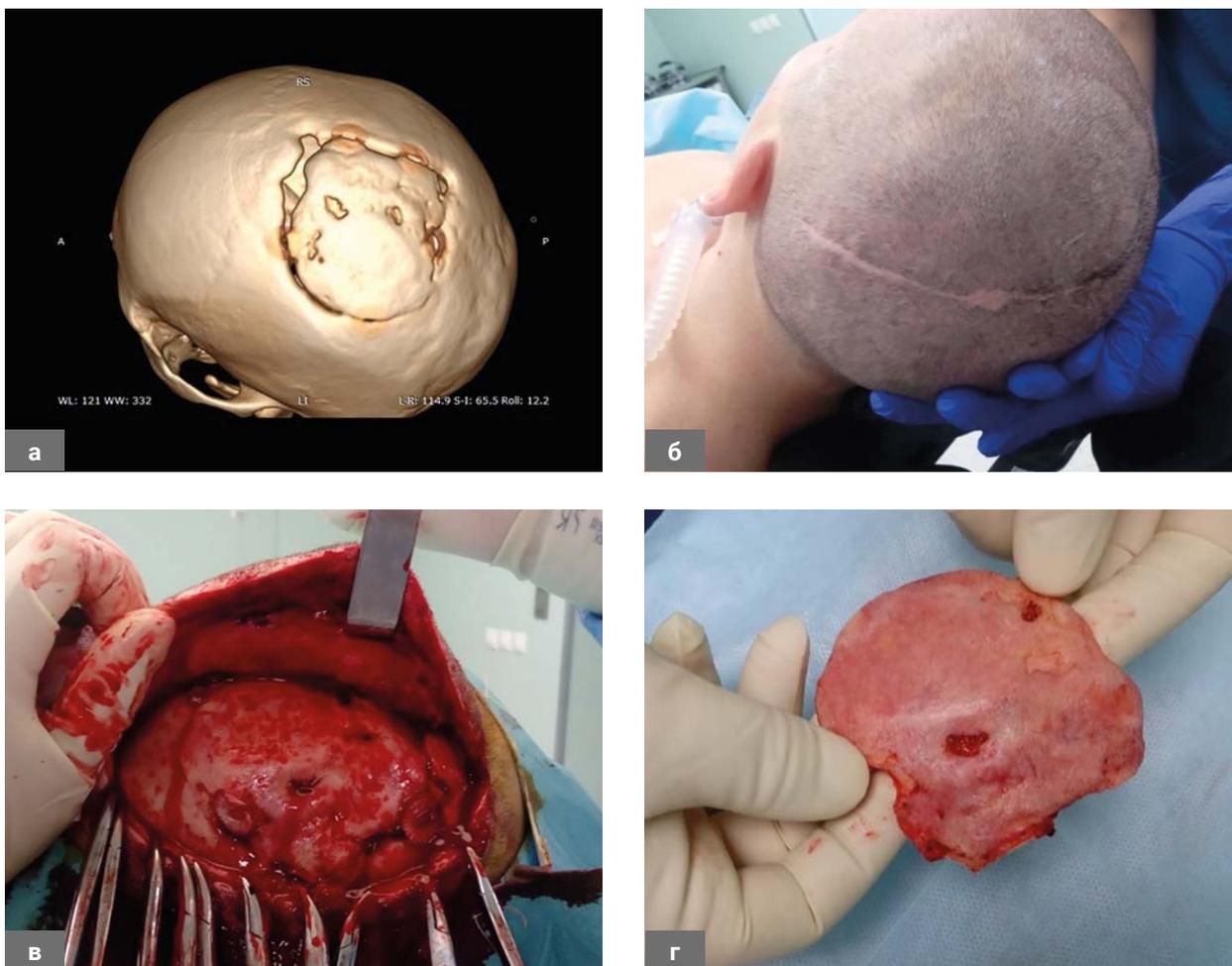


Рис. 5. а – 3D реконструкция в костном режиме через 6 месяцев после повторной операции. Определяется резорбция кости вдоль линии костного пропила и в толще костного лоскута; б – область послеоперационного рубца и мягкие ткани головы не изменены; в – интраоперационно определяется подвижный лоскут синюшного цвета, с множественными очагами резорбции; г – удаленный костный лоскут.

цифические изменения — выраженная дистрофия, очаги некроза и мелкоочаговые кровоизлияния; признаков воспаления нет. Пациентка выписана в удовлетворительном состоянии. Планируемая этапная краниопластика завершена с использованием индивидуально изготовленного титанового имплантата в августе 2019 г.

ОБСУЖДЕНИЕ

В современной нейрохирургии большая часть плановых трепанаций, при отсутствии выраженного отека головного мозга с пролабированием в трепанационное окно или опухолевой деструкции кости, завершается установкой аутокости в трепанационное окно с использованием различных методик фиксации [7, 8]. Данная процедура стандартна и обеспечивает восстановление формы черепа, ликвородинамики и перфузии головного мозга. Интраоперационно не имеет значения как обрабатывался и в чем хранился костный лоскут, так как полностью нарушено его кровоснабжение: отслоена надкостница, пересечен диплоический слой, разорваны перфоранты от твердой мозговой оболочки [10].

В данном клиническом примере отмечается частичная резорбция костного лоскута через 12 месяцев после выполнения КПК в плановом порядке. С момента КПК до реимплантации костного лоскута прошло 2,5 часа. С гемостатической целью воск не использовался. Костный лоскут был погружен в физиологический раствор. Фиксация костного лоскута осуществлялась с помощью краниофиксов фирмы Medtronic.

Ввиду ограниченного числа сообщений о резорбции костного лоскута, не ясна патофизиология данного процесса. Возможное объяснение резорбции может наблюдаться при наличии синдрома Горхема, при котором наблюдается прогрессивный остеолитический процесс в основном трубчатых костей. При обследовании данной пациентки не было выявлено дополнительных очагов резорбции, либо признаков остеопороза при СКТ скелета.

Другим вероятным предиктором резорбции может быть использование воска во время операции либо подапоневротическое скопление ликвора в послеоперационном периоде. Как было указано выше, при КПК разрушаются все источники кровообращения кости, а использование воска препятствует восстановлению кровообращения после реплантации через диплоические вены. Подапоневротическое скопление ликвора в послеоперационном периоде также препятствует формированию рубцовой ткани по периметру костного лоскута.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На сегодняшний день однозначно определить предикторы резорбции костного лоскута после выполнения плановой КПК не представляется возможным. Пациент обязательно должен быть информирован о возможности развития такого осложнения в позднем послеоперационном периоде, а нейрохирург должен избегать интраоперационного использования воска и герметизировать твердую мозговую оболочку для предотвращения скопления ликвора в подапоневротическом пространстве в раннем послеоперационном периоде.

Участие авторов:

Росторгуев Э.Е. – концепция и дизайн исследования, написание текста, обработка материала, научное редактирование.

Кузнецова Н.С. – сбор, анализ и интерпретация данных, ассистенция на операциях, подготовка статьи.

Ядрышников Г.Н. – сбор, анализ и интерпретация данных, подготовка статьи.

Список литературы

1. Daou B, Zanaty M, Chalouhi N, Dalyai R, Jabbour P, Yang S, et al. Low Incidence of Bone Flap Resorption After Native Bone Cranioplasty in Adults. *World Neurosurgery*. 2016 Aug 1;92:89–94. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2016.04.115>
2. Korhonen TK, Tetri S, Huttunen J, Lindgren A, Piitulainen JM, Serlo W, et al. Predictors of primary autograft cranioplasty survival and resorption after craniectomy. *J Neurosurg*. 2018 May 1;1–8. <https://doi.org/10.3171/2017.12.JNS172013>
3. Matsukawa H, Miyama M, Miyazaki T, Uemori G, Kinoshita Y, Sakakibara F, et al. Impacts of pressure bonding fixation on a bone flap depression and resorption in patients with craniotomy. *Journal of Clinical Neuroscience*. 2017 Jul 1;41:162–167. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2017.02.026>
4. Yin J, Jiang Y. Completely resorption of autologous skull

flap after orthotopic transplantation: a case report. *Int J Clin Exp Med.* 2014 Apr 15;7(4):1169–1171.

5. Schneider T. Subtotale Knochenresorption nach Reimplantation eines Knochendeckels: 2 Fallbeispiele. *Neurochirurgia.* 1987 Jan;30(01):19–20.

<https://doi.org/10.1055/s-2008-1053649>

6. Prolo DJ, Burres KP, McLaughlin WT, Christensen AH. Autogenous Skull Cranioplasty Fresh and Preserved (Frozen), with Consideration of the Cellular Response. *Neurosurgery.* 1979 Jan 1;4(1):18–29.

<https://doi.org/10.1227/00006123-197901000-00005>

7. Hunter PD, Pelofsky S. Classification of autogenous skull grafts in cranial reconstruction. *J Craniomaxillofac Trauma.* 1995;1(4):8–15.

8. Movassaghi K, Halen JV, Ganchi P, Amin-Hanjani S, Mesa J, Yaremchuk M. Cranioplasty with Subcutaneously Preserved Autologous Bone Grafts. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 2006 Jan;117(1):202–206.

<https://doi.org/10.1097/01.prs.0000187152.48402.17>

9. Gooch MR, Gin GE, Kenning TJ, German JW. Complications of cranioplasty following decompressive craniectomy: analysis of 62 cases. *Neurosurgical Focus.* 2009 Jun 1;26(6): E9.

<https://doi.org/10.3171/2009.3.FOCUS0962>

10. Chang V, Hartzfeld P, Langlois M, Mahmood A, Seyfried D. Outcomes of cranial repair after craniectomy: Clinical article. *Journal of Neurosurgery.* 2010 May 1;112(5):1120–1124.

<https://doi.org/10.3171/2009.6.JNS09133>

Информация об авторах:

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

Кузнецова Наталья Сергеевна – врач-онколог, сотрудник отделения нейроонкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2337-326X>, SPIN: 8553-3081, AuthorID: 920734

Ядрышникова Галина Николаевна – врач анестезиолог-реаниматолог, сотрудник отделения анестезиологии и реанимации, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. SPIN: 5963-0447, AuthorID: 961525

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ БЕВАЦИЗУМАБА В ПОДДЕРЖИВАЮЩЕЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКОВ

Л.Ю.Владимилова, А.Э.Сторожакова, Е.А.Калабанова*, Е.В.Вереникина, С.Н.Кабанов,
Я.В.Светицкая, Н.Ю.Саманева, Н.М.Тихановская, К.А.Новоселова, О.Г.Селезнева, А.В.Тишина

ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России,
344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул.14 линия, д. 63

РЕЗЮМЕ

Одно из наиболее распространенных онкологических заболеваний среди женского населения – рак яичников. Рост и распространение опухоли связано с активным неоангиогенезом, который регулируется фактором роста эндотелия сосудов (VEGF). Бевацизумаб снижает активность VEGF, что подавляет рост опухоли.

Цель исследования. Оценка результатов применения бевацизумаба в поддерживающей терапии рака яичников.

Материалы и методы. В период с 2014 по 2019 годы 26-ти пациенткам с раком яичников проводилась поддерживающая терапия бевацизумабом 15 мг/кг внутривенно капельно 1 раз в 21 день после завершения курсов химиотерапии по поводу рецидивов заболевания.

Результаты. У 76,9% больных проведение поддерживающей терапии бевацизумабом позволило сохранить частичный ответ опухоли на лечение или стабилизацию. Возникшие нежелательные явления были в основном 1–2 степени (в 88,5% случаев от всех возникших нежелательных явлений) и контролировались назначением соответствующей медикаментозной коррекции. У одной больной возникшие геморрагические осложнения послужили причиной отмены бевацизумаба.

Заключение. Введение бевацизумаба в поддерживающем режиме после завершения химиотерапии рецидивов рака яичников (как платиночувствительных, так и платинорезистентных) позволяет значительно улучшить результаты лечения. Профиль токсичности применения бевацизумаба в поддерживающем режиме приемлем.

Ключевые слова:

рак яичников, рецидив, бевацизумаб, поддерживающая терапия, выживаемость без прогрессирования, нежелательные явления

Для корреспонденции:

Калабанова Елена Александровна – к.м.н., старший научный сотрудник отдела лекарственного лечения опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

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

E-mail: alenakalabanova@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0158-3757>

SPIN: 9090-3007, AuthorID: 734992

ResearcherID: V-2943-2019

Scopus Author ID: 57046062200

Информация о финансировании: финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования:

Владимилова Л.Ю., Сторожакова А.Э., Калабанова Е.А., Вереникина Е.В., Кабанов С.Н., Светицкая Я.В., Саманева Н.Ю., Тихановская Н.М., Новоселова К.А., Селезнева О.Г., Тишина А.В. Опыт применения бевацизумаба в поддерживающей терапии у больных раком яичников. Южно-российский онкологический журнал. 2020; 1(3): 67-74. <https://doi.org/10.37748/2687-0533-2020-1-3-7>

Получено 01.06.2020, Рецензия (1) 02.07.2020, Рецензия (2) 06.07.2020, Принята к печати 01.09.2020

BEVACIZUMAB IN MAINTENANCE THERAPY FOR OVARIAN CANCER PATIENTS

L.Yu.Vladimirova, A.E.Storozhakova, E.A.Kalabanova*, E.V.Verenikina, S.N.Kabanov, Ya.V.Svetitskaya, N.Yu.Samaneva, N.M.Tikhanovskaya, K.A.Novoselova, O.G.Selezneva, A.V.Tishina

National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia,
63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

ABSTRACT

Ovarian cancer is one of the most common cancers in women. Growth and extension of the tumor are associated with active neoangiogenesis regulated by vascular endothelial growth factor (VEGF). Bevacizumab decreases VEGF activity and inhibits the tumor growth.

Purpose of the study. The aim of the study was to evaluate results of bevacizumab in maintenance therapy for ovarian cancer.

Materials and methods. 26 patients with ovarian cancer received maintenance therapy with drop infusions of bevacizumab 15 mg/kg once a day for 21 days in 2014–2019 after completing chemotherapy for relapses.

Results. Bevacizumab maintained partial response or stabilization in 76.9% of patients. The adverse events were mainly of grades 1–2 (in 88.5% of all adverse events) and could be managed by an appropriate medical correction. Hemorrhagic complications caused the cancellation of bevacizumab in one patient.

Conclusions. Bevacizumab in maintenance therapy after completing chemotherapy for ovarian cancer relapses (both platinum-sensitive and platinum-resistant) significantly improves the treatment results. The toxicity profile of bevacizumab in maintenance treatment is acceptable.

Keywords:

ovarian cancer, relapse, bevacizumab, maintenance therapy, progression-free survival, adverse event

For correspondence:

Elena A. Kalabanova – Cand. Sci. (Med.), senior researcher of tumor drug therapy department, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation.

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

E-mail: alena.kalabanova@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0158-3757>

SPIN: 9090-3007, AuthorID: 734992

ResearcherID: V-2943-2019

Scopus Author ID: 57046062200

Information about funding: no funding of this work has been held.

Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

For citation:

Vladimirova L.Yu., Storozhakova A.E., Kalabanova E.A., Verenikina E.V., Kabanov S.N., Svetitskaya Ya.V., Samaneva N.Yu., Tikhanovskaya N.M., Novoselova K.A., Selezneva O.G., Tishina A.V. Bevacizumab in maintenance therapy for ovarian cancer patients. South Russian Journal of Cancer. 2020; 1(3): 67-74. <https://doi.org/10.37748/2687-0533-2020-1-3-7>

Received 01.06.2020, Review (1) 02.07.2020, Review (2) 06.07.2020, Accepted 01.09.2020

Рак яичников является одним из наиболее распространенных онкологических заболеваний у женщин. В России отмечается рост заболеваемости раком яичников. В 2008 году распространенность данного заболевания на 100 000 населения составляла 59,1 чел., а в 2018 году — 76,2. В 2018 году удельный вес больных с I–II стадиями рака яичников составил 40,3% от числа больных с диагнозом, установленным впервые в жизни, а у остальных пациентов первоначально выявлена III и IV стадии. Летальность больных раком яичников в течение года с момента установления диагноза составила в 2018 году 21,3% [1]. Частота рецидивов после проведенного первичного комплексного лечения у больных с III и IV стадиями рака яичников достигает 80% [2]. При ранних стадиях заболевания и наличии неблагоприятных факторов прогноза частота возникновения рецидивов также высока [3, 4]. Возникновение рецидива рака яичников зависит не только от стадии процесса, но и от адекватности проведенного первичного лечения. Назначение эффективных схем противоопухолевой лекарственной терапии при раке яичников является важнейшим фактором улучшения прогноза течения данного заболевания.

Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) является важным регулятором физиологического и патологического ангиогенеза. Известно, что в опухоли яичника экспрессия VEGF выше, чем в нормальной ткани, так как в связи с быстрым ростом опухоли и возрастающей потребностью клеток в кислороде и питательных веществах необходим быстрый неопластический ангиогенез. В ткани эпителиальных опухолей яичника выявлено резкое возрастание не только абсолютного уровня VEGF-A, но и соотношения его с рецептором-1, которое показывает содержание свободного эндотелиального фактора и характеризует ангиогенную активность в ткани [5]. Бевацизумаб представляет собой рекомбинантное гипериммерное моноклональное IgG1 антитело, которое селективно связывается и ингибирует биологическую активность фактора роста эндотелия сосудов *in vitro* и *in vivo*. Снижение экспрессии VEGF приводит к угнетению роста сосудов, что подавляет рост опухоли, тем самым влияя на отдаленные результаты [6]. Крупные международные исследования OCEANS (Ovarian Cancer Study Comparing Efficacy and Safety of Chemotherapy and Anti-Angiogenic Therapy in Platinum-Sensitive Recurrent Disease) и AURELIA (Avastin Use in Platinum-Resistant Epithelial Ovarian

Cancer) показали эффективность антиангиогенной терапии (бевацизумаб) совместно с платиновыми и неплатиновыми комбинациями при платиночувствительных и платинорезистентных рецидивах рака яичников [7, 8]. В рандомизированном исследовании III фазы OCEANS сравнивали эффективность лечения больных платиночувствительным рецидивом рака яичников, первичным раком брюшины или фаллопиевых труб с использованием режимов гемцитабин + карбопалтин + бевацизумаб (основная группа) и гемцитабин + карбоплатин + плацебо (контрольная группа). Среднее количество циклов химиотерапии в обеих группах — 6 (минимум 1 курс, максимально 10 курсов). Бевацизумаб или плацебо вводили в/в в первый день каждого цикла химиотерапии и после завершения циклов химиотерапии продолжали применение бевацизумаба или плацебо до прогрессирования заболевания или появления непереносимой токсичности. Среднее количество циклов бевацизумаба составило 12 (от 1 до 43), плацебо — 10 (от 1 до 36). При анализе результатов данного исследования (медиана наблюдения составила 24 месяца) выявлено снижение риска прогрессирования болезни в 2 раза и статистически значимое повышение периода без прогрессирования заболевания в группе больных, получавших бевацизумаб. Так медиана периода без прогрессирования заболевания в основной группе составила 12,4 месяцев, а в контрольной — 8,4 месяцев (ОР 0,484; 95% ДИ 0,388–0,605; log-rank $p < 0,0001$). Частичный ответ на лечение наблюдался у 61,2% больных основной группы (в контрольной — 48,3%). Длительность ответа в основной группе составила 10,4 месяцев, в контрольной — 7,4 месяцев (ОР 0,534; 95% ДИ 0,408–0,698). В рандомизированном исследовании III фазы AURELIA оценивалась эффективность применения бевацизумаба и химиотерапии у больных с платинорезистентным рецидивирующим раком яичников. Первичной конечной точкой была выбрана выживаемость без прогрессирования. В этом исследовании пациентки рандомизированы в две группы, одна из которых получала монокимиотерапию (пегилированный липосомальный доксорубицин, паклитаксел или топотекан), вторая — монокимиотерапию в сочетании с бевацизумабом. В группе пациенток, получавших монокимиотерапию в сочетании с бевацизумабом медиана выживаемости без прогрессирования составила 6,7 мес. (95% ДИ 5,7–7,9), в то время как в группе с только монокимиотерапией — 3,4 мес. (95% ДИ 2,2–3,7) [9].

Согласно практическим рекомендациям Минздрава России и Российского общества клинической онкологии, больным с рецидивами рака яичников рекомендуется добавление к схеме химиотерапии бевацизумаба (7,5 или 15 мг/кг в/в 1 раз в 3 недели). После окончания химиотерапии введение бевацизумаба рекомендовано продолжить до прогрессирования или неприемлемой токсичности [10]. Целью поддерживающей терапии является поддержание клинического статуса пациентки, достигнутого предшествующим лечением [11]. Таким образом, продление времени до последующего прогрессирования заболевания считается приоритетной задачей при назначении поддерживающей терапии. Поддерживающая терапия продолжается в течение длительного времени, которое ограничено установлением прогрессирования заболевания или появлением недопустимых побочных эффектов. Первым лекарственным препаратом, показанным для применения в поддерживающем режиме при раке яичников был бевацизумаб.

Цель исследования: обобщение опыта применения бевацизумаба в поддерживающем режиме при раке яичников.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С 2014 по 2019 год в ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России 26-ти пациенткам с раком яичников проводилась поддерживающая терапия бевацизумабом после завершения курсов химиотерапии по поводу рецидивов заболевания. На момент начала первичного лечения рака яичников пациентки были в возрасте от 45 до 70 лет, средний возраст 51 ± 10 лет. Распределение больных по стадиям заболевания представлено в таблице 1.

Серозно-папиллярная карцинома определена при морфологическом исследовании у 12 больных (46,2%), серозная карцинома — у 5 (19,2%), муцинозная карцинома — у 3 больных (11,5%), эндо-

метриоидная карцинома — у 2 больных (7,7%), серозно-муцинозная карцинома — у 2 больных (7,7%), недифференцированная карцинома выявлена — у 2 больных (7,7%). У 16 больных (61,5%) выявлена низкая степень дифференцировки опухоли (G3), у 2 больных (7,7%) — высокая степень дифференцировки опухоли (G1), у остальных пациенток — степень дифференцировки не определена. В большинстве случаев (18 человек (69,2%) первичное лечение рака яичников заключалось в выполнении хирургического этапа и далее проведении 6 курсов полихимиотерапии. У 8 больных (30,8%) первым этапом проведено 3 курса неoadъювантной полихимиотерапии, далее выполнен хирургический этап лечения и продолжена полихимиотерапия.

У большинства больных (22 человека, 84,6%) рецидив заболевания выявлен в сроки более 6 месяцев от завершения лечения первичной опухоли (платиночувствительный рецидив), у 4 больных (15,4%) наблюдался платинорефрактерный рецидив рака яичников. Чаще прогрессирование заболевания проявлялось рецидивом в малом тазу (53,8%), метастазами по брюшине (46,1%) и метастазами в отдаленных лимфатических узлах (38,5%). В большинстве случаев, у 16 больных (61,5%), наблюдались не одиночные метастазы, а сочетанное поражение двух и более органов (табл. 2).

У 10 больных (38,5%) бевацизумаб был добавлен к схеме противоопухолевой лекарственной терапии при лечении первого рецидива рака яичников. Четыре пациентки из данной подгруппы получали бевацизумаб 15 мг/кг внутривенно капельно 1 раз в 3 недели совместно с доксорубицином 50 мг/м² внутривенно капельно в 1-й день 21-дневного курса; четыре пациентки — в комбинации с паклитакселом 175 мг/м² внутривенно капельно в 1-й день 21-дневного курса и карбоплатином AUC 5 внутривенно капельно в 1-й день 21-дневного курса; две больные — с пегилированным липосомальным доксорубицином 40 мг/м² внутривенно капельно в 1-й

Таблица 1. Распределение больных по стадиям заболевания (FIGO)

Стадия рака яичников по FIGO	Абсолютное число больных	Процент (n=26)
I	2	7,7%
II	2	7,7%
III	16	61,5%
IV	6	23,1%

день 28-дневного курса. У 10 больных (38,5%) при лечении второго рецидива в схемы лечения был включен бевацизумаб, который пациентки продолжили получать и после завершения химиотерапии. Из этой подгруппы больных у двух бевацизумаб 15 мг/кг внутривенно капельно 1 раз в 3 недели вводился в комбинации с липосомальным пегилированным доксорубицином 40 мг/м² внутривенно капельно в 1-й день 28-дневного курса; у двух – с паклитакселом 175 мг/м² внутривенно капельно в 1-й день 21-дневного курса и карбоплатином АUC 5 внутривенно капельно в 1-й день 21-дневного курса; у двух больных – с доксорубицином 50 мг/м² внутривенно капельно в 1-й день 21-дневного курса; у двух – с гемцитабином 1000 мг/м² внутривенно капельно в 1-й, 8-й дни 21-дневного курса в комбинации с карбоплатином АUC 4 внутривенно капельно в 1-й день 21-дневного курса; у двух – с этопозидом 100 мг внутрь в 1–5-й дни 21-дневного курса и карбоплатином АUC 5 внутривенно капельно в 1-й день 21-дневного курса. При возникновении третьего рецидива бевацизумаб в дозе 15 мг/кг внутривенно капельно 1 раз в 3 недели в комбинации с химиотерапией использовали у 6 больных (23%). Из данной подгруппы больных двум пациенткам вводили доксорубицин 50 мг/м² внутривенно капельно в 1-й день 21-дневного курса, двум – пегилированный липосомальный доксорубицин 40 мг/м² внутривенно капельно в 1-й день 28-дневного курса, а еще двум – доксорубицин 50 мг/м² внутривенно капельно в 1-й день 21-дневного курса и карбоплатин АUC 5 внутривенно капельно в 1-й день 21-днев-

ного курса. После завершения курсов химиотерапии пациентки продолжили терапию бевацизумабом в поддерживающем режиме. В нашей группе больным проводилась поддерживающая терапия бевацизумабом 15 мг/кг внутривенно капельно 1 раз в 3 недели в сроки от 3 до 29 месяцев, в среднем 10,4 ± 5,4 месяцев. Выживаемость без прогрессирования рассчитывали по методу Каплана-Мейера, оценка объективного эффекта противоопухолевой лекарственной терапии проводилась согласно критериям RECIST 1.1, статистическая обработка данных проведена в программе «Statistica 7.0».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Частичный ответ на поддерживающую терапию бевацизумабом был зафиксирован у 12 больных (46,2%), стабилизация процесса – у 8 больных (30,7%), прогрессирование выявлено у 6 пациенток (23,1%). Годичная беспрогрессивная выживаемость 77%, медиана не достигнута.

Нами не было найдено данных об информации по ответу на лечение при введении бевацизумаба в поддерживающем режиме без дополнительного введения химиопрепаратов. Поэтому мы сравнили наши данные с данными исследования III фазы OCEANS, в котором использовалась для лечения больных с платиночувствительными рецидивами рака яичников схема лечения карбоплатин + гемцитабин + бевацизумаб (и после завершения циклов химиотерапии продолжали введение бевацизумаба). При сравнении полученных нами данных по от-

Таблица 2. Локализация опухолевого процесса при прогрессировании рака яичников

Локализация опухолевого процесса	Абсолютное число больных	Процент (n=26)
Рецидив в малом тазу	14	53,8%
Метастатическое поражение брюшины	12	46,1%
Метастазы в лимфоузлах	10	38,5%
Метастазы в печени	6	23,1%
Метастатическое поражение брыжейки кишки	4	15,4%
Метастатическое поражение плевры	1	3,8%
Метастазы в легких	1	3,8%
Метастазы в кости	1	3,8%
Метастатическое поражение большого сальника	1	3,8%

вету на поддерживающую терапию бевацизумабом с данными исследования III фазы OCEANS выявлены схожие показатели частичного ответа — в нашей группе он составил 46,2%, в исследовании — 61,2%.

Полученные нами данные по выживаемости без прогрессирования не противоречат результатам исследования OCEANS, где интервал времени без прогрессирования заболевания у пациенток получавших бевацизумаб в комбинации с химиотерапией составил 12,4 месяцев.

Среди нежелательных явлений чаще всего встречалась артериальная гипертензия 1–2 степени у 20 больных (76,9%), 3 степени — у двух (7,7%) больных. Протеинурия 2 степени на фоне терапии бевацизумабом отмечена у 1 больной (3,8%). Гемморрагические осложнения наблюдались у 3 больных (11,5%), у одной больной (3,8%) возникшие гемморрагические осложнения послужили причиной отмены бевацизумаба. Согласно результатам исследования OCEANS при добавлении бевацизумаба в схему лечения отмечалась гипертензия более 3 степени у 17% больных, протеинурия более 3 степени — у 9%. По нашим данным, вышеуказанные нежелательные явления встречались реже, чем в исследовании III фазы, что, возможно, связано с тем, что у больных описываемой группы бевацизумаб применялся в монорежиме, тогда как в исследовании — в сочетании с гемцитабином и карбоплатином.

Клинический случай

Пациентке Е., 1953 г. р., после планового посещения гинеколога, 10.06.2016 года было выполнено ультразвуковое исследование органов малого таза, на котором выявлено кзади от матки и справа солидно-кистозное образование 86 x 83 x 69 мм. Определен уровень онкомаркеров крови: Ca-125 составил 1840 ед/мл., He-4 89,34 пмоль/л.. По данным компьютерной томографии отдаленные метастазы не выявлены. Была выполнена пункционная биопсия опухоли яичника, получен цитологический анализ: «карцинома». 15.07.2016 года выполнена пангистерэктомия, экстирпация большого сальника. При морфологическом исследовании получен гистологический анализ: «низкодифференцированная серозно-папиллярная карцинома с наличием петрификатов, солидных структур, инфильтративным ростом, в жировой клетчатке сальника — очаговые мелкие лимфоцитарные инфильтраты, эктазия и полнокровие сосудов, в стенке маточной трубы — атрофия слизистой, склероз подслизистого

слоя, в стенке шейки матки — незначительная дисплазия покровного эпителия, лейомиома с очагами гиалиноза, гипопластичный эндометрий». Был установлен клинический диагноз: рак яичников St III (pT3cN0M0), состояние после хирургического лечения, клиническая группа 2. Пациентке было проведено 3 курса полихимиотерапии по схеме карбоплатин AUC 5 в/в капельно в 1 день + доцетаксел 75 мг/м² в/в капельно в 1 день, каждые 3 недели. При ультразвуковом исследовании органов малого таза после проведения 3 курсов полихимиотерапии выявлен продолженный рост опухоли (в малом тазу справа и ближе к подвздошной области справа гипоэхогенный рецидивный субстрат до 28 мм, по заднему своду гипоэхогенный рецидивный инфильтрат до 45 мм с нечеткими контурами). В связи с чем выполнена смена линии химиотерапии и проведено 6 курсов химиотерапии гемцитабином 1000 мг/м² в/в капельно в 1, 8, 15-е дни (28 дневного курса). При очередном контрольном ультразвуковом исследовании органов брюшной полости и малого таза получены следующие данные: «в полости малого таза находится изоэхогенный узел 13 x 20 мм, узловое образование по задней поверхности головки поджелудочной железы (36 x 42 мм)». По данным спиральной рентгеновской компьютерной томографии органов брюшной полости картина объемного патологического образования головки поджелудочной железы (39 x 52 x 30 мм). По данным магнитно-резонансной томографии брюшной полости картина характерна для кистозно-солидной опухоли, расположенной в области головки поджелудочной железы с экстраорганным ростом в область двенадцатиперстной кишки, прилежит к правой почечной ножке (58 x 44 x 49 мм). Пациентка была проконсультирована абдоминальным онкологом, данная ситуация расценена как прогрессирование рака яичников. В связи с прогрессированием выполнена смена линии химиотерапии, с 17.05.2017 года проведено 9 курсов химиотерапии пегилированным липосомальным доксорубицином 40 мг/м² в/в капельно в 1 день, 28-дневного курса и бевацизумабом 15 мг/кг в/в капельно 1 раз в 3 недели. Далее была выполнена спиральная рентгеновская компьютерная томография органов грудной клетки, брюшной полости и области малого таза и ультразвуковое исследование органов брюшной полости и области малого таза (январь 2018 года), подтвердившие стабилизацию заболевания (в эпигастрии и мезогастррии центрально и больше справа

вплотную к головке поджелудочной железы прилежит гипоезогенный метастатический инфильтрат сливного характера общими размерами 74 x 28 мм с единичным анэзогенным включением в центре, при цветовом доплеровском картировании (ЦДК) слабый, смешанный кровоток, рецидива в малом тазу не выявлено). Уровень опухолевых маркеров снизился до нормальных значений – Ca-125 9 ед/мл, He-4 99,3 пмоль/л. В связи со стабилизацией заболевания с января 2018 года продолжено введение бевацизумаба 15 мг/кг в/в капельно 1 раз в 3 недели в поддерживающем режиме. Каждые 3 месяца выполняется спиральная рентгеновская компьютерная томография органов грудной клетки, брюшной полости и малого таза и ультразвуковое исследование органов брюшной полости и малого таза, а также определяются уровни опухолевых маркеров (Ca-125 и He-4), подтверждающие стабилизацию заболевания. К моменту подачи статьи в журнал пациентка получает бевацизумаб в течение 36 месяцев, из них в поддерживающем режиме – 29 месяцев. Соматический статус по шкале ECOG 0, пациентка принимает активное участие в социальной жизни, продолжает работать по специальности. Из нежелательных явлений на фоне проведения

терапии бевацизумабом выявлена протеинурия 1–2 степени (впервые появилась через 9 месяцев после начала терапии бевацизумабом) и гипертоническая болезнь 2 стадии 1 степени (артериальное давление контролируется приемом антагониста рецепторов ангиотензина II типа 1, петлевого диуретика и кардиоселективного бета1-адреноблокатора).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Введение бевацизумаба в поддерживающем режиме после завершения химиотерапии рецидивов рака яичников (как платиночувствительных, так и платинорезистентных) позволяет значительно улучшить результаты лечения. У 76,9% больных нашей группы проведение поддерживающей терапии бевацизумабом позволило сохранить частичный ответ опухоли на лечение или стабилизацию. Профиль токсичности применения бевацизумаба в поддерживающем режиме приемлем. Возникшие нежелательные явления были в основном 1–2 степени (в 88,5% случаев от всех возникших нежелательных явлений) и контролировались назначением соответствующей медикаментозной коррекции.

Участие авторов:

Владимирова Л.Ю. – концепция и дизайн исследования, научное редактирование, сбор, анализ и интерпретация данных, подготовка статьи.
Сторожакова А.Э. – концепция и дизайн исследования, техническое редактирование, сбор, анализ и интерпретация данных, подготовка статьи.
Калабанова Е.А. – сбор, анализ и интерпретация данных, написание текста, обработка материала, оформление библиографии, подготовка статьи.
Вереникина Е.В. – сбор, анализ и интерпретация данных.
Кабанов С.Н. – сбор, анализ и интерпретация данных.
Светицкая Я.В. – сбор, анализ и интерпретация данных.
Саманева Н.Ю. – сбор, анализ и интерпретация данных.
Тихановская Н.М. – сбор, анализ и интерпретация данных.
Новоселова К.А. – анализ и интерпретация данных, техническое редактирование.
Селезнева О.Г. – сбор, анализ и интерпретация данных.
Тишина А.В. – техническое редактирование, оформление библиографии.

Список литературы

1. Состояние онкологической помощи населению России в 2018 году. Под ред. Каприна А.Д., Старинского В.В., Петровой Г.В. М., 2019, 236 с.
2. Новикова Е.Г., Московская Е.Ю. Причины, диагностика и лечение рецидивов рака яичников. Обзор литературы и анализ собственных данных. Онкология. Журнал им. П. А. Герцена. 2015;4(3):59–67.
<https://doi.org/10.17116/onkolog20154359-67>
3. Ledermann JA, Kristeleit RS. Optimal treatment for relapsing ovarian cancer. Ann Oncol. 2010 Oct;21 Suppl 7: vii218-vii222.
<https://doi.org/10.1093/annonc/mdq377>
4. Thigpen T, Stuart G, du Bois A, Friedlander M, Fujiwara K, Guastalla JP, et al. Clinical trials in ovarian carcinoma: requirements for standard approaches and regimens. Ann Oncol. 2005;16 Suppl 8: viii13-viii19.
<https://doi.org/10.1093/annonc/mdi962>
5. Кит О.И., Франциянц Е.М., Моисеенко Т.И., Вереникина Е.В., Черярина Н.Д., Козлова Л.С. и др. Факторы роста

в ткани различных стадий рака яичников. Медицинский вестник Северного Кавказа. 2017;12(1):48–52.

<https://doi.org/10.14300/mnnc.2017.12013>

6. Huang S, Robinson JB, Deguzman A, Bucana CD, Fidler IJ. Blockade of nuclear factor-kappa B signaling inhibits angiogenesis and tumorigenicity of human ovarian cancer cells by suppressing expression of vascular endothelial growth factor and interleukin 8. *Cancer Res.* 2000 Oct 1;60(19):5334–5339.

7. Aghajanian C, Blank SV, Goff BA, Judson PL, Teneriello MG, Husain A, et al. OCEANS: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III trial of chemotherapy with or without bevacizumab in patients with platinum-sensitive recurrent epithelial ovarian, primary peritoneal, or fallopian tube cancer. *J Clin Oncol.* 2012 Jun 10;30(17):2039–2045.

<https://doi.org/10.1200/JCO.2012.42.0505>

8. Perren TJ, Swart AM, Pfisterer J, Ledermann JA, Pujade-Lauraine E, Kristensen G, et al. A phase 3 trial of bevacizumab

in ovarian cancer. *N Engl J Med.* 2011 Dec 29;365(26):2484–2496. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1103799>

9. Pujade-Lauraine E, Hilpert F, Weber B, Reuss A, Poveda A, Kristensen G, et al. Bevacizumab combined with chemotherapy for platinum-resistant recurrent ovarian cancer: The AURELIA open-label randomized phase III trial. *J Clin Oncol.* 2014 May 1;32(13):1302–1308.

<https://doi.org/10.1200/JCO.2013.51.4489>

10. Тюляндин С.А., Коломиец Л.А., Морхов К.Ю., Нечушкина В.М., Покатаев И.А., Румянцев А.А. и др. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака яичников, первичного рака брюшины и рака маточных труб. Злокачественные опухоли: Практические рекомендации RUSSCO. 2019;9(3s2):164–176.

<https://doi.org/10.18027/2224-5057-2019-9-3s2-164-176>

11. Markman M. The Evolving Arena of Ovarian Cancer Maintenance Therapy. *Oncology.* 2019;97(4):202–205.

<https://doi.org/10.1159/000501618>

Информация об авторах:

Владимирова Любовь Юрьевна – д.м.н., профессор, руководитель отдела лекарственного лечения опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4236-6476>, SPIN: 4857-6202, AuthorID: 289090, ResearcherID: U-8132-2019, Scopus Author ID: 7004401163

Сторожакова Анна Эдуардовна – к.м.н., заведующая отделением противоопухолевой лекарственной терапии №2 ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0965-0264>, SPIN: 2804-7474, AuthorID: 734057, ResearcherID: U-6202-2019, Scopus Author ID: 57045921800

Калабанова Елена Александровна* – к.м.н., старший научный сотрудник отдела лекарственного лечения опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0158-3757>, SPIN: 9090-3007, AuthorID: 734992, ResearcherID: V-2943-2019, Scopus Author ID: 57046062200

Вереникина Екатерина Владимировна – к.м.н., заведующая отделением онкогинекологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1084-5176>, SPIN: 6610-7824, AuthorID: 734269, Scopus Author ID: 57194271506

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

Светицкая Яна Владимировна – к.м.н., научный сотрудник отдела лекарственного лечения опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5371-0709>, SPIN: 6821-0327, AuthorID: 571593, ResearcherID: AАН-7906-2019

Саманева Наталья Юрьевна – врач отделения противоопухолевой лекарственной терапии №2, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0843-6012>, SPIN: 1181-0659, AuthorID: 734488, ResearcherID: AАН-7905-2019, Scopus Author ID: 57192874030

Тихановская Наталья Михайловна – к.м.н., врач отделения противоопухолевой лекарственной терапии №1, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. SPIN: 9000-4877, AuthorID: 734051

Новоселова Кристина Александровна – к.м.н., врач отделения противоопухолевой лекарственной терапии №1, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. SPIN: 3492-1620, AuthorID: 734634

Селезнева Ольга Григорьевна – к.м.н., врач отделения онкогинекологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6196-0257>, SPIN: 3855-8046, AuthorID: 432125

Тишина Анна Викторовна – врач отделения противоопухолевой лекарственной терапии №2, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7990-8710>, SPIN: 7686-3707, AuthorID: 965165, ResearcherID: H-2460-2018



ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ (ОСНОВНОЕ ПОЛОЖЕНИЕ)

- С договором на публикацию статей, а также подробно с правилами для авторов и примерами оформления библиографии можно ознакомиться на сайте журнала «Южно-российский онкологический журнал» www.cancersp.com
- Статьи, оформленные не в соответствии с данными правилами, не принимаются и не рецензируются.
- Статьи направлять через online форму на сайте журнала www.cancersp.com

Редакция рецензируемого научно-практического журнала «Южно-российский онкологический журнал» принимает к рассмотрению рукописи, которые должны соответствовать тематике журнала и требованиям редакции.

Опубликованию в журнале подлежат только статьи, ранее не публиковавшиеся в других изданиях.

Не допускается направление в редакцию работ, которые отправлены в другие издания.

Публикация в журнале «Южно-российский онкологический журнал» осуществляется бесплатно.

Рукопись направляется в редакцию в электронном варианте через online форму сайта <https://www.cancersp.com>.

Вместе с рукописью в редакцию в виде сканированных оригиналов в формате *JPG или *PDF направляются следующие документы:

• **Направительное письмо от организации**, в которой работает первый автор, завизированное учёным секретарем или руководителем учреждения.

• **Договор о предоставлении права использования статьи**, заполненный первым автором от имени всего авторского коллектива и подписанный всеми авторами статьи.

1. Статья должна быть представлена в электронном виде. Шрифт – Times New Roman, размер – 12, интервал – 1,0.

Текст статьи, включая резюме, информацию об авторах, список литературы, должны быть оформлены одним файлом, а каждый рисунок – отдельным.

Объем статей. Не более 20 страниц – для рубрики «Оригинальное исследование», 25 – «Обзор литературы», 12 – «Лекция», 10 – «Клиническое наблюдение». Если более – по согласованию с редакцией.

2. Оформление первой страницы (сведения подаются на русском и английском языках).

• **Название статьи.** Должно быть кратким и информативным. В заглавии статьи не допускается использование сокращений и аббревиатур.

- Инициалы и фамилии всех авторов. Обязательно указывается, в каком учреждении работает автор.
- Полное название учреждения и его адрес.

3. Резюме является кратким и последовательным изложением материала статьи по основным разделам. Объем текста резюме – в пределах 2000 знаков.

Резюме к оригинальным статьям должно быть структурированным (содержать разделы Цель, Материалы и методы, Результаты, Заключение).

Ключевые слова. Указать не менее 6 ключевых слов или фраз.

4. **Информация об авторах.** Указываются фамилия, имя, отчество, ученая степень, ученое звание, должность, место работы всех (!) авторов. Отдельно следует выделить (значком *) автора, ответственного за связь с редакцией и указать контактный e-mail и мобильный телефон.

5. **Дополнительная информация**
- **Конфликт интересов.** Авторы должны раскрыть финансовые или другие существующие конфликты интересов, связанные с рукописью.
 - **Информация о финансировании.** При наличии источника финансирования исследования необходимо его указать.
 - **Благодарности.** Авторы могут выразить благодарности людям и организациям, способствовавшим публикации статьи, но не являющимся ее авторами.

6. **Вклад авторов**
Авторы – это люди, которых научная группа определила как основных участников изложенной работы и которые согласились взять на себя ответственность за свои работы. Кроме ответственности за свою часть работы, автор должен указать, каким образом каждый из соавторов ответственен за другие части работы.

Журнал «Южно-российский онкологический журнал» принимает следующие критерии авторства:

Участие авторов:

- Концепция и дизайн исследования, написание текста, обработка материала.
- Научное редактирование.
- Техническое редактирование, оформление библиографии, подготовка иллюстраций.
- Сбор, анализ и интерпретация данных, ассистенция на операциях, подготовка статьи и т. д.

В список авторов не включаются люди, не являющиеся авторами статьи. Имена людей, которые не являются авторами, но оказали иную поддержку, указывают в разделе «Благодарности».

Важно! Информацию о вкладе авторов необходимо указывать перед разделом «Список литературы».

7. Оформление списка литературы. Ссылки в тексте статьи располагаются в квадратных скобках в порядке цитирования (не по алфавиту!).

Количество цитируемых работ: в оригинальных статьях – не более 30, в обзорах литературы – не более 60, в лекциях и других материалах – до 15.

- При ссылке на статьи из журналов указывают фамилии и инициалы авторов, название статьи, название журнала (название англоязычных журналов следует приводить в соответствии с каталогом названий базы данных MedLine), год, том, номер выпуска, страницы.
- При ссылке на книжное издание – фамилии и инициалы авторов, полное название книги, место издания, название издательства, год издания.
- При ссылке на авторефераты диссертаций – фамилии и инициалы авторов, полное название работы, докторская или кандидатская, год и место издания.

- При ссылке на электронные источники – название сайта, электронный адрес цитируемого источника, дата обращения.

Второй список литературы (References) является полным аналогом списка литературы, в котором источники на русском языке должны быть представлены в романском алфавите (латинице) в таком качестве, чтобы эти ссылки могли быть учтены при изучении цитирования публикаций авторов и журналов.

Если у статьи есть официальный перевод названия, его нужно вставить вместо транслитерации!

Транслитерацию следует проводить в стандарте BSI (можно воспользоваться сайтом – <http://ru.translit.net/?account=bsi>).

8. Иллюстративный материал. Все таблицы и рисунки должны быть пронумерованы и иметь название. Ссылки на иллюстративный материал приводятся в тексте статьи в круглых скобках. В подписях под рисунками должны быть сделаны объяснения значений всех кривых, букв, цифр и прочих условных обозначений на русском языке.

9. Сокращения. Единицы измерений даются в СИ. Все сокращения (аббревиатуры) в тексте статьи должны быть полностью расшифрованы при первом употреблении. Использование необщепринятых сокращений не допускается.

Все статьи принимаются к публикации бесплатно.

Редакция оставляет за собой право редактирования, сокращения публикуемых материалов и адаптации их к рубрикам журнала.



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

РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ
**ЮЖНО-РОССИЙСКИЙ
ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ**

PEER-REVIEWED SCIENTIFIC AND PRACTICAL
SOUTH RUSSIAN JOURNAL OF CANCER

www.cancersp.com

