

АЛЬМАНАХ КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

50 (1) • 2022

Молекулярно-генетическое тестирование
рака толстой кишки: клинические аспекты

Цитотоксическая активность макрофагов
и ее роль в патогенезе опухолей

Прогностическая значимость актин-
связывающих белков фасцина и эзрина
у больных плоскоклеточным раком
головы и шеи

Клинические особенности метилирования
генов микроРНК в пограничных
опухолях яичников и в зависимости
от гистологического строения
злокачественных опухолей яичников

Особенности метаболомики стероидов по
данным газовой хромато-масс-спектрометрии
у больных адренокортикальным раком
и с инциденталомой надпочечников при
врожденной дисфункции коры надпочечников

Сравнение результатов лечения больных
неоперабельным немелкоклеточным
раком легкого в рамках клинических
исследований и стандартной клинической
практики методом псевдорандомизации

Анализ выживаемости пациентов
с немелкоклеточным раком легкого
в Новосибирской области
за период 2015–2019 гг.

Клиническое наблюдение уретрального
рецидива больших размеров после
цистэктомии у пациента с инвазивным
раком мочевого пузыря

ТЕМА НОМЕРА:

ОНКОЛОГИЯ

АЛЬМАНАХ КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Научно-практический журнал
Издается с 1998 г.
Периодичность – 8 выпусков в год
Учредитель – ГБУЗ МО «Московский
областной научно-исследовательский
клинический институт
им. М.Ф. Владимирского» (МОНИКИ)

Том 50 • № 1 • 2022

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Глезер Мария Генриховна, д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры кардиологии, функциональной и ультразвуковой диагностики Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского Сеченовского университета (Москва, Россия)

Заместитель главного редактора

Какорина Екатерина Петровна, д-р мед. наук, профессор, заместитель директора ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского по науке и международным связям (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Алексенко Сергей Алексеевич, д-р мед. наук, профессор (Хабаровск, Россия)

Базарный Владимир Викторович, д-р мед. наук, профессор (Екатеринбург, Россия)

Белоусова Елена Александровна, д-р мед. наук, профессор (Москва, Россия)

Богачев-Прокофьев Александр Владимирович, д-р мед. наук (Новосибирск, Россия)

Васюк Юрий Александрович, д-р мед. наук, профессор (Москва, Россия)

Великанова Людмила Иосифовна, д-р биол. наук, профессор (Санкт-Петербург, Россия)

Галстян Гагик Радикович, д-р мед. наук, профессор (Москва, Россия)

Ганюков Владимир Иванович, д-р мед. наук (Кемерово, Россия)

Годков Михаил Андреевич, д-р мед. наук (Москва, Россия)

Голухова Елена Зеликовна, д-р мед. наук, профессор, академик РАН (Москва, Россия)

Григорьев Евгений Валерьевич, д-р мед. наук, профессор, профессор РАН (Кемерово, Россия)

Гуляева Людмила Федоровна, д-р биол. наук, профессор (Новосибирск, Россия)

Давыдов Михаил Михайлович, д-р мед. наук, чл.-корр. РАН (Москва, Россия)

Добрынина Лариса Анатольевна, д-р мед. наук (Москва, Россия)

Драпкина Оксана Михайловна, д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН (Москва, Россия)

Зыбина Наталья Николаевна, д-р биол. наук, профессор (Санкт-Петербург, Россия)

Киров Михаил Юрьевич, д-р мед. наук, профессор (Архангельск, Россия)

Коков Леонид Сергеевич, д-р мед. наук, профессор, академик РАН (Москва, Россия)

Котов Алексей Сергеевич, д-р мед. наук, доцент (Москва, Россия)

Кушлинский Николай Евгеньевич, д-р мед. наук, профессор, академик РАН (Москва, Россия)

Литвиненко Игорь Вячеславович, д-р мед. наук, профессор (Санкт-Петербург, Россия)

Лобзин Юрий Владимирович, д-р мед. наук, профессор, академик РАН (Санкт-Петербург, Россия)

Львов Андрей Николаевич, д-р мед. наук, профессор (Москва, Россия)

Мельниченко Галина Афанасьевна, д-р мед. наук, профессор, академик РАН (Москва, Россия)

Молочков Антон Владимирович, д-р мед. наук, профессор (Москва, Россия)

Научный редактор выпуска

Кушлинский Николай Евгеньевич, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, заведующий лабораторией клинической биохимии и лабораторной диагностики ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Ответственный редактор

Парпара Олеся Анатольевна (Москва, Россия)

Наймарк Олег Борисович, д-р физ.-мат. наук, профессор (Пермь, Россия)

Нероев Владимир Владимирович, д-р мед. наук, профессор, академик РАН (Москва, Россия)

Овезов Алексей Мурадович, д-р мед. наук (Москва, Россия)

Пономаренко Геннадий Николаевич, д-р мед. наук, профессор (Санкт-Петербург, Россия)

Потекаев Николай Николаевич, д-р мед. наук, профессор (Москва, Россия)

Проваторов Сергей Ильич, д-р мед. наук (Москва, Россия)

Пронин Игорь Николаевич, д-р мед. наук, профессор, академик РАН (Москва, Россия)

Романко Юрий Сергеевич, д-р мед. наук (Москва, Россия)

Синицын Валентин Евгеньевич, д-р мед. наук, профессор (Москва, Россия)

Ситкин Станислав Игоревич, канд. мед. наук, д-р медицины Латвийской Республики (Санкт-Петербург, Россия)

Стилиди Иван Сократович, д-р мед. наук, профессор, академик РАН (Москва, Россия)

Трофимова Татьяна Николаевна, д-р мед. наук, профессор (Санкт-Петербург, Россия)

Шишацкая Екатерина Игоревна, д-р биол. наук, канд. мед. наук, профессор РАН (Красноярск, Россия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Баркан Ариель, д-р мед. наук, профессор (Энн-Арбор, США)

Брагин Анатолий Григорьевич, д-р биол. наук (Лос-Анджелес, США)

Бухфельдер Михаэль, д-р мед. наук, профессор (Эрланген, Германия)

Вольффенбюттель Брюс, д-р мед. наук, профессор (Гронинген, Нидерланды)

Густина Андреа, д-р мед. наук, президент Европейского общества эндокринологов (Милан, Италия)

Де Херт Стефан, д-р мед. наук, председатель научного комплекса Европейского общества анестезиологии (Гент, Бельгия)

Литвинов Рустем Игоревич, д-р мед. наук, профессор (Филадельфия, США)

Майр Йоханнес, д-р мед. наук, профессор (Базель, Швейцария)

Мурешану Дафин Ф., д-р мед. наук, профессор (Клуж-Напока, Румыния)

Палеев Николай Романович, д-р мед. наук, профессор, академик РАН (Москва, Россия)

Райниш Уолтер, д-р мед. наук (Вена, Австрия)

Ян Чи, д-р мед. наук, профессор (Шанхай, Китай)

Содержание

| | |
|--|--|
| Обзор | |
| <i>Мартьянов А.С., Кулигина Е.Ш., Романько А.А., Имянитов Е.Н.</i> | |
| Молекулярно-генетическое тестирование рака толстой кишки: клинические аспекты | 1 |
| <i>Ковалева О.В., Подлесная П.А., Грачев А.Н.</i> | |
| Цитотоксическая активность макрофагов и ее роль в патогенезе опухолей | 13 |
| <hr/> | |
| Оригинальные статьи | |
| <i>Лукина С.С., Бурденный А.М., Филиппова Е.А., Пронина И.В., Казубская Т.П., Кушлинский Д.Н., Уткин Д.О., Брага Э.А., Логинов В.И., Кушлинский Н.Е.</i> | |
| Клинические особенности метилирования генов микроРНК в пограничных опухолях яичников и в зависимости от гистологического строения злокачественных опухолей яичников | 21 |
| <i>Кондакова И.В., Какурина Г.В., Колегова Е.С., Черемисина О.В., Коришунов Д.А., Бахронов И.А., Чойнзонов Е.Л.</i> | |
| Прогностическая значимость актин-связывающих белков фасцина и эзрина у больных плоскоклеточным раком головы и шеи | 31 |
| <i>Шафигуллина З.Р., Великанова Л.И., Ворохобина Н.В., Малеваная Е.В., Стрельникова Е.Г., Бохан В.Ю., Бритвин Т.А., Стилиди И.С.</i> | |
| Особенности метаболизма стероидов по данным газовой хромато-масс-спектрометрии у больных адренокортикальным раком и с инциденталомой | |
| | надпочечников при врожденной дисфункции коры надпочечников |
| | 38 |
| | <i>Моисеенко Ф.В., Федянин М.Ю., Волков Н.М., Абдулова Н.Х., Левченко Н.В., Чубенко В.А., Жабина А.С., Степанова М.Л., Крамчанинов М.М., Артемьева Е.В., Моисеенко В.М.</i> |
| | Сравнение результатов лечения больных неоперабельным немелкоклеточным раком легкого в рамках клинических исследований и стандартной клинической практики методом псевдорандомизации |
| | 47 |
| | <i>Чернова Г.Е., Козлов В.В., Гуляева Л.Ф.</i> |
| | Анализ выживаемости пациентов с немелкоклеточным раком легкого в Новосибирской области за период 2015–2019 гг. |
| | 56 |
| | <i>Жабина А.С., Моисеенко Ф.В., Волков Н.М., Абдулова Н.Х., Егоренков В.В., Левченко Н.В., Артемьева Е.В., Степанова Е.О., Нестерова Е.О., Моисеенко В.М.</i> |
| | Частота железодефицитной анемии у пациентов с метастатическим колоректальным раком |
| | 65 |
| <hr/> | |
| | Клинические наблюдения |
| | <i>Балканов А.С., Виноградов А.В., Базаев В.В., Степанова Е.А., Гармаш С.В.</i> |
| | Клиническое наблюдение уретрального рецидива больших размеров после цистэктомии у пациента с инвазивным раком мочевого пузыря |
| | 71 |
| | <hr/> |
| | Ретракция..... |
| | 76 |

Подписной индекс 81988
Объединенный каталог «Пресса России»

Журнал индексируется в системе
Российского индекса научного цитирования
(РИНЦ): www.elibrary.ru

Журнал индексируется в Russian Science
Citation Index на платформе Web of Science

© 2022 ГБУЗ МО МОНИКИ
им. М.Ф. Владимирского
www.monikiweb.ru

ISSN 2072-0505 (print)
ISSN 2587-9294 (online)

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе
по надзору в сфере связи, информационных
технологий и массовых коммуникаций.
Свидетельство ПИ № ФС77-34730 от 23.12.2008.

«Альманах клинической медицины» входит
в перечень рецензируемых научных изданий,
в которых должны быть опубликованы основные
научные результаты диссертаций на соискание
ученой степени кандидата наук, на соискание
ученой степени доктора наук (Перечень ВАК).
Шифры научных специальностей:
3.1.18 – Внутренние болезни (медицинские
науки)

3.1.19 – Эндокринология (медицинские науки)

3.1.20 – Кардиология (медицинские науки)

3.1.24 – Неврология (медицинские науки)

14.01.13 – Лучевая диагностика, лучевая терапия
(медицинские науки) – по 16.10.2022

Редакция не несет ответственности за содержа-
ние рекламных публикаций.

Статьи, опубликованные в журнале «Альманах
клинической медицины», распространяются
по Лицензии «С указанием авторства –

некоммерческая» – Creative Commons
Attribution-NonCommercial 4.0 International
(CC BY-NC 4.0). Пользователи вправе
читать, скачивать, копировать, делиться
(распространять на любом носителе и в любом
формате) и адаптировать материалы статьи
(перерабатывать, видоизменять, создавать новые
произведения) при соблюдении следующих
условий: оформление ссылки на оригинальную
публикацию в журнале «Альманах клинической
медицины», указание на внесение изменений
(в случае адаптации), использование
исключительно в некоммерческих целях.
По вопросам репринтов и коммерческого
использования просьба обращаться в редакцию.

Адрес редакции:

129110, Москва, ул. Щепкина, 61/2, корп. 8

Тел.: +7 (495) 688 32 41

E-mail: o.pargpara@monikiweb.ru

www.almclinmed.ru

ALMANAC OF CLINICAL MEDICINE

The scientific and practical journal

Published since 1998

Founded and published by Moscow Regional
Research and Clinical Institute (MONIKI),
Moscow, Russian Federation

Publication frequency: 8 issues per year

Volume 50 • Number 1 • 2022

EDITOR-IN-CHIEF

Maria G. Glezer, MD, PhD, Professor, Chair of Cardiology, Functional and Ultrasonic Diagnostics, Institute of Clinical Medicine named after N.V. Sklifosovskiy, Sechenov University (Moscow, Russia)

Deputy Chief Editor

Ekaterina P. Kakorina, MD, PhD, Professor, Deputy Director on Science and International Communications, MONIKI (Moscow, Russia)

EDITORIAL BOARD

Sergei A. Alekseenko, MD, PhD (Khabarovsk, Russia)

Vladimir V. Bazarnyi, MD, PhD, Professor (Yekaterinburg, Russia)

Elena A. Belousova, MD, PhD, Professor (Moscow, Russia)

Alexandr V. Bogachev-Prokophiev, MD, PhD (Novosibirsk, Russia)

Mikhail M. Davydov, MD, PhD, Corr. member of Russ. Acad. Sci. (Moscow, Russia)

Larisa A. Dobrynina, MD, PhD (Moscow, Russia)

Oksana M. Drapkina, MD, PhD, Professor, Corr. member of Russ. Acad. Sci. (Moscow, Russia)

Gagik R. Galstyan, MD, PhD, Professor (Moscow, Russia)

Vladimir I. Ganyukov, MD, PhD (Kemerovo, Russian)

Mikhail A. Godkov, MD, PhD (Moscow, Russia)

Elena Z. Golukhova, MD, PhD, Professor, Member of Russ. Acad. Sci. (Moscow, Russia)

Evgeny V. Grigoryev, MD, PhD, Professor, Professor of Russ. Acad. Sci. (Kemerovo, Russia)

Lyudmila F. Gulyaeva, Doctor of Biol. Sci., Professor (Novosibirsk, Russia)

Mikhail Yu. Kirov, MD, PhD, Professor (Arkhangelsk, Russia)

Leonid S. Kokov, MD, PhD, Professor, Member of Russ. Acad. Sci. (Moscow, Russia)

Alexey S. Kotov, MD, PhD, Associate Professor (Moscow, Russia)

Nikolay E. Kushlinskii, MD, PhD, Professor, Member of Russ. Acad. Sci. (Moscow, Russia)

Igor V. Litvinenko, MD, PhD, Professor (Saint Petersburg, Russia)

Yurii V. Lobzin, MD, PhD, Professor, Member of Russ. Acad. Sci. (Saint Petersburg, Russia)

Andrey N. Lvov, MD, PhD, Professor (Moscow, Russia)

Galina A. Mel'nichenko, MD, PhD, Professor, Member of Russ. Acad. Sci. (Moscow, Russia)

Anton V. Molochkov, MD, PhD, Professor (Moscow, Russia)

Oleg B. Naimark, ScD in Phys.-Math., Professor (Perm, Russia)

Vladimir V. Neroev, MD, PhD, Professor, Member of Russ. Acad. Sci. (Moscow, Russia)

Alexey M. Ovezov, MD, PhD (Moscow, Russia)

Gennadiy N. Ponomarenko, MD, PhD, Professor (Saint Petersburg, Russia)

Science Editor

Nikolay E. Kushlinskii, MD, PhD, Professor, Member of Russ. Acad. Sci., Head of Laboratory of Clinical Biochemistry and Laboratorial Diagnostics, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow, Russia)

Managing Editor

Olesya A. Parpara (Moscow, Russia)

Nikolay N. Potekaev, MD, PhD, Professor (Moscow, Russia)

Igor N. Pronin, MD, PhD, Professor, Member of Russ. Acad. Sci. (Moscow, Russia)

Sergei I. Provotorov, MD, PhD (Moscow, Russia)

Yury S. Romanko, MD, PhD, Professor (Moscow, Russia)

Ekaterina I. Shishatskaya, ScD in Biology, PhD, Professor of Russ. Acad. Sci. (Krasnoyarsk, Russia)

Valentin E. Sinitzyn, MD, PhD, Professor (Moscow, Russia)

Stanislav I. Sitkin, Dr. med., PhD (Saint Petersburg, Russia)

Ivan S. Stilidi, MD, PhD, Professor, Member of Russ. Acad. Sci. (Moscow, Russia)

Tatyana N. Trofimova, MD, PhD, Professor (Saint Petersburg, Russia)

Yury A. Vasyuk, MD, PhD, Professor (Moscow, Russia)

Ludmila I. Velikanova, Doctor of Biol. Sci., Professor (Saint Petersburg, Russia)

Natalia N. Zybina, Doctor of Biol. Sci., Professor (Saint Petersburg, Russia)

EDITORIAL COUNCIL

Ariel L. Barkan, MD, Professor of Medicine, Professor of Neurosurgery (Ann Arbor, USA)

Anatol J. Bragin, PhD (Los Angeles, USA)

Michael Buchfelder, MD, PhD, Professor (Erlangen, Germany)

Stefan De Hert, MD, PHD, Chair of ESA Scientific Committee, Professor of Department of Anaesthesiology and Perioperative Medicine (Gent, Belgium)

Andrea Giustina, MD, President of European Society of Endocrinology, Professor of Endocrinology (Milan, Italy)

Rustem I. Litvinov, MD, PhD, Professor (Philadelphia, USA)

Johannes Mayr, MD, Professor of Pediatric Surgery (Basel, Switzerland)

Dafin F. Muresanu, MD, PhD, MBA, FANA, Professor (Cluj-Napoca, Romania)

Nikolay R. Paleev, MD, PhD, Professor, Member of Russ. Acad. Sci. (Moscow, Russia)

Walter Reinisch, MD (Vienna, Austria)

Bruce H.R. Wolffenbuttel, MD, PhD, Professor of Endocrinology and Metabolism (Groningen, Netherlands)

Chi Yang, DDS, PhD, Professor (Shanghai, PRC)

Content

Review Article

A.S. Martianov, E.Sh. Kuligina, A.A. Romanko, E.N. Imyanitov

Molecular genetic testing in colon cancer: clinical aspects 1

O.V. Kovaleva, P.A. Podlesnaya, A.N. Gratchev

Macrophage cytotoxic activity and its role in the tumor pathogenesis 13

Articles

S.S. Lukina, A.M. Burdenny, E.A. Filippova, I.V. Pronina, T.P. Kazubskaya, D.N. Kushlinsky, D.O. Utkin, E.A. Braga, V.I. Loginov, N.E. Kushlinskii

Clinical particulars of the microRNA genes methylation in borderline ovarian tumors and depending on the histological structure in ovarian malignancies 21

I.V. Kondakova, G.V. Kakurina, E.S. Kolegova, O.V. Cheremisina, D.A. Korshunov, I.A. Bakhrinov, E.L. Choinzonov

The prognostic value of actin-binding proteins fascin and ezrin in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck 31

Z.R. Shafigullina, L.I. Velikanova, N.V. Vorokhobina, E.V. Malevanaya, E.G. Strelnikova, V.Yu. Bokhian, T.A. Britvin, I.S. Stilidi

Specific characteristics of metabolomics as assessed by gas chromatography-mass spectrometry in patients with

adrenocortical cancer and with adrenal incidentalomas in congenital adrenal hyperplasia 38

F.V. Moiseenko, M.Yu. Fedyanin, N.M. Volkov, N.Kh. Abduloeva, N.V. Levchenko, V.A. Chubenko, A.S. Zhabina, M.L. Stepanova, M.M. Kramchaninov, E.V. Artemeva, V.M. Moiseyenko

Comparison of the treatment results in patients with inoperable non-small cell lung cancer in clinical trials and in standard clinical practice using the pseudorandomization method 47

G.E. Chernova, V.V. Kozlov, L.F. Gulyaeva

Survival analysis of patients with non-small cell lung cancer in Novosibirsk region from 2015 to 2019 56

A.S. Zhabina, F.V. Moiseenko, N.M. Volkov, N.Kh. Abduloeva, V.V. Egorenkov, N.V. Levchenko, E.V. Artemeva, E.O. Stepanova, E.O. Nesterova, V.M. Moiseyenko

Prevalence of iron deficiency anemia in patients with metastatic colorectal cancer 65

Clinical Cases

A.S. Balkanov, A.V. Vinogradov, V.V. Bazaev, E.A. Stepanova, S.V. Garmash

A clinical case of a big urethral recurrence after cystectomy in a patient with invasive bladder cancer .. 71

Retraction 76

Subscription index 81988
in the united Pressa Rossii catalogue

The journal is indexed by Russian Index of Scientific Citation (RISC): www.elibrary.ru

The journal is indexed by Russian Science Citation Index based on the Web of Science platform

© 2022 MONIKI
www.monikiweb.ru

ISSN 2072-0505 (print)
ISSN 2587-9294 (online)

The journal is registered by Federal Service for Supervision in the Sphere of Telecom, Information Technologies and Mass Communications. Registration certificate ПИИ № ФС77-34730 was issued on December 23, 2008.

Since 2001 the Almanac of Clinical Medicine is included in the List of leading referred journals, recommended by VAK (Higher Attestation Committee) for publication of scientific results of dissertations for the degrees of doctors and candidates of sciences.

Editorial board and the editors are not responsible for claims made in the advertisements published in the journal.

“Almanac of Clinical Medicine” is an open access journal which means that everybody can read, download, copy, distribute, print, search, or link to the full texts of these articles in accordance with Creative Commons Attribution – NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).

Editorial Office

Almanac of Clinical Medicine, MONIKI,
61/2–8 Shchepkina ul., Moscow, 129110,
Russian Federation. Tel.: +7 (495) 688 32 41
E-mail: o.parpapa@monikiweb.ru
www.almclinmed.ru



Обзор

Молекулярно-генетическое тестирование рака толстой кишки: клинические аспекты

Мартьянов А.С.¹ • Кулигина Е.Ш.¹ • Романько А.А.^{1,2} • Имянитов Е.Н.^{1,2}

Мартьянов Александр Сергеевич – аспирант, научная лаборатория молекулярной онкологии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7690-8328>. E-mail: aleksandr.s.martianov@gmail.com

Кулигина Екатерина Шотовна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр., научная лаборатория молекулярной онкологии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2396-6540>

✉ 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68, Российская Федерация. Тел.: +7 (812) 439 95 28. E-mail: kate.kuligina@gmail.com

Романько Александр Андреевич – лаборант-исследователь, научная лаборатория молекулярной онкологии¹; аспирант, медицинский лаборант, кафедра общей и молекулярной медицинской генетики²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6549-8378>. E-mail: romanko.aleksandr.a@gmail.com

Имянитов Евгений Наумович – д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, заведующий научным отделом биологии опухолевого роста¹; заведующий кафедрой общей и молекулярной медицинской генетики²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4529-7891>. E-mail: evgeny@imyanitov.spb.ru

Молекулярно-генетическая диагностика – неотъемлемый элемент планирования лечения пациентов с раком толстой кишки (РТК). Выбор системной терапии при РТК невозможен без молекулярного тестирования опухоли. Так, оценка статуса генов *KRAS* и *NRAS* обязательна при рассмотрении вопроса о назначении анти-EGFR терапии. Опухоли с мутацией *BRAF* V600E характеризуются агрессивным поведением, необходимостью использования интенсивных режимов цитостатической терапии, а также чувствительностью к комбинированной терапии ингибиторами *BRAF* и *EGFR*. Инактивация генов системы репарации неспаренных оснований ДНК (англ. mismatch repair, MMR), гена *MUTYH* или ДНК-полимеразы эпсилон (*POLE*) приводит к чрезмерной мутационной нагрузке опухоли; такие виды РТК обладают высокой иммуногенностью и поэтому отвечают на лечение ингибиторами контрольных точек иммунного ответа. У некоторых колоректальных карцином отмечается гиперэкспрессия онкогена *HER2*, что определяет их чувствительность к соответствующей таргетной терапии. Существуют РТК с клиническими признаками наследственной предрасположенности к этому заболеванию – в таких случаях для выявления наследственных форм необходимо проведение

генетического тестирования. Сегодня молекулярная диагностика РТК претерпевает серьезные изменения в связи с повсеместным внедрением секвенирования нового поколения (англ. next-generation sequencing, NGS) и сверхчувствительных модификаций полимеразной цепной реакции (например, цифровой капельной, ddPCR). Неинвазивная жидкостная биопсия – еще одно крайне полезное нововведение, которое имеет растущее значение при скрининге РТК, контроле эффективности хирургического вмешательства и мониторинге течения заболевания.

Ключевые слова: рак толстой кишки, колоректальный рак, таргетная терапия, *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *HER2*, микросателлитная нестабильность, *MUTYH*, наследственный раковый синдром

Для цитирования: Мартьянов АС, Кулигина ЕШ, Романько АА, Имянитов ЕН. Молекулярно-генетическое тестирование рака толстой кишки: клинические аспекты. Альманах клинической медицины. 2022;50(1):1–12. doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-002.

Поступила 27.11.2021; доработана 10.01.2022; принята к публикации 31.01.2022; опубликована онлайн 17.02.2022

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России; 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68, Российская Федерация

² ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России; 194100, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2, Российская Федерация

Рак толстой кишки (РТК) занимает третье место в структуре онкологической заболеваемости: ежегодно в мире регистрируется приблизительно 1,8 млн новых случаев. Примерно половина пациентов с диагнозом РТК умирает от этого заболевания [1]. Опухоли толстой кишки принято классифицировать на правосторонние (проксимальные), поражающие слепую кишку, восходящую ободочную кишку, печеночный изгиб и поперечную ободочную кишку,

и левосторонние (дистальные), расположенные на селезеночном изгибе, нисходящей ободочной, сигмовидной и прямой кишке. Правосторонние и левосторонние РТК имеют различное эмбриологическое происхождение. Правосторонние РТК более характерны для женщин, часто дают метастазы в брюшину. Левосторонние опухоли чаще встречаются у мужчин и обычно метастазируют в печень и легкие. Разное биологическое поведение лево- и правосторонних опухолей, по крайней



мере отчасти, объясняется различиями в спектре опухоль-ассоциированных (драйверных) мутаций [2, 3].

Большинство РТК – генетически стабильные опухоли. Карциномы с высоким уровнем микросателлитной нестабильности (англ. high level microsatellite instability, MSI-H) встречаются значительно реже. Существует особая категория «гиперметилированных» РТК – такие неоплазмы характеризуются избыточным метилированием CpG-островков, расположенных, как правило, в промоторных областях генов (англ. CpG island methylator phenotype, CIMP). Некоторые классификации РТК основываются на транскрипционных профилях опухолей. К наиболее характерным молекулярным особенностям РТК относят нарушения сигнальных путей MAPK и WNT, хромосомные дисбалансы в локусах 1p, 5q, 17p, 18p, 18q, 20p и 22q, мутации в онкогенах KRAS, NRAS или BRAF, активацию ферментов PI3-киназ и повреждение гена TP53 [4–7]. Согласно данным недавних исследований, на молекулярный патогенез РТК также влияет микробиом кишечника [8, 9].

Раннее выявление колоректального рака значительно улучшает показатели продолжительности жизни пациентов [3]. К сожалению, во многих случаях первичная опухоль успевает распространить метастазы на самых ранних, не поддающихся диагностике с помощью современных методов, стадиях [10].

В данном обзоре обобщены актуальные сведения об особенностях наследственных и приобретенных РТК, которые могут быть использованы в клинической практике для индивидуализации подбора терапевтических схем. Поиск литературы велся в базе PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) по ключевым словам “colorectal cancer”, “driver mutations”, “MSI”, “predictive markers”, “hereditary mutations”, “liquid biopsy”.

Маркеры для выбора системной терапии

Анализ мутаций в генах семейства RAS для назначения анти-EGFR терапии

В большинстве РТК активирован сигнальный путь MAPK – мультифункциональный онкогенный каскад, главными компонентами которого являются рецепторные тирозинкиназы (EGFR, HER2), белки семейства Ras/Raf и MAP-киназы (MEK1/2, ERK1/2). Причиной аномальной активации MAPK-пути в ряде случаев служит гиперэкспрессия рецепторных тирозинкиназ (как правило, рецептора эпидермального фактора роста, EGFR). Полагают, что примерно треть неоплазм EGFR-зависимые. Остальные случаи вызваны либо

активацией альтернативных каскадов (например, амплификация HER2 имеет место в 2–5% РТК), либо мутационными событиями, затрагивающими гены RAS или RAF (>60% случаев РТК). Опухоли, вызванные активацией EGFR, отличаются чувствительностью к таргетной терапии антителами к EGFR – панитумумабом или цетуксимабом; напротив, пациенты с EGFR-независимыми опухолями к этим препаратам резистентны [3, 11–13].

Применение цетуксимаба и панитумумаба в сочетании со стандартными схемами цитотоксической химиотерапии может значительно улучшить исход заболевания для РТК с нормальным статусом генов RAS/RAF. Это особенно актуально для левосторонних опухолей, тогда как для правосторонних, по-видимому, эффект от применения ингибиторов EGFR менее выражен [14, 15]. В случаях резистентности к стандартной химиотерапии панитумумаб и цетуксимаб могут использоваться в режиме монотерапии. Описаны попытки применить монотерапию анти-EGFR препаратами в качестве первой линии лечения, чтобы отсрочить назначение цитотоксических препаратов, однако полученные результаты показали лишь умеренные клинические эффекты [16]. Таким образом, комбинирование анти-EGFR антител и цитотоксических препаратов в первой линии терапии у пациентов, не имеющих мутаций в генах RAS/RAF, на данный момент признается предпочтительным вариантом лечения. Этот подход оставляет возможность для повторного назначения цетуксимаба или панитумумаба на поздних этапах лечения данной категории пациентов [14, 15].

Технические нюансы молекулярно-генетического тестирования онкогенов KRAS и NRAS заслуживают отдельного обсуждения. Определение мутационного статуса генов семейства RAS имеет решающее значение для судьбы пациентов: некоторые данные указывают на то, что ошибочное назначение анти-EGFR терапии пациентам с активирующими мутациями генов RAS, которые присутствовали в опухолевой ткани, но были пропущены из-за лабораторных ошибок, может привести к ускорению роста опухоли [17]. Оба локуса – KRAS и NRAS – необходимо проверять как минимум на наличие мутаций в кодонах 12, 13, 59, 61, 117 и 146 [18], при этом каждый из этих кодонов может быть затронут несколькими различными нуклеотидными заменами. Важно, что некоторые редкие варианты не выявляются коммерческими наборами для полимеразной цепной реакции (ПЦР) [19]. В ранних клинических исследованиях для анализа экзонов 2, 3 и 4 использовалось



стандартное секвенирование ДНК, однако этот метод не позволяет добиться надежного выявления мутаций, если в образце опухоли присутствует большое количество нормальных клеток. Эти недостатки могут быть преодолены при помощи секвенирования нового поколения (англ. next-generation sequencing, NGS), которое применяет множественные прочтения к каждому анализируемому геномному фрагменту и, следовательно, выявляет единичные мутантные копии даже на фоне избытка нормальной ДНК [20]. NGS – чрезвычайно дорогостоящий метод; кроме того, для одного запуска NGS обычно требуется накопление множества образцов, что может увеличить время выполнения анализа [21].

«Классическая» модель развития РТК, предложенная в 1990 г. E.R. Fearon и В. Vogelstein, предполагает, что появление мутаций в генах *RAS* дает пролиферативное преимущество развивающемуся опухолевому клону, вследствие чего он быстро вытесняет своих предшественников с «нормальным» аллелем *RAS* и полностью заполняет опухолевую массу [22]. Обычно результаты молекулярно-генетического анализа колоректальных карцином подтверждают эту концепцию, но существуют и исключения. Так, в диагностической практике нередко встречаются случаи РТК, которые относят к *RAS*-негативным на основании стандартного ПЦР-теста, однако последующее применение ультрачувствительных методов цифровой капельной ПЦР (ddPCR) или NGS выявляет единичные *RAS*-мутантные клетки. В отношении таких неоплазм применение анти-EGFR терапии вполне эффективно, поскольку критическая масса злокачественных клеток, образующих опухоль, остается уязвимой к ингибированию EGFR [23, 24]. Подобные случаи свидетельствуют о том, что для принятия правильного клинического решения зачастую требуется количественное определение доли мутантного аллеля *RAS* в опухоли [25, 26]. Более того, обнаружено, что изначально *RAS*-негативные опухоли приобретают резистентность к ингибиторам EGFR именно из-за появления клонов с мутациями в этих генах. Одним из механизмов, способствующих приобретению неопластическими клетками активирующих замен в онкогенах *RAS*, может быть угнетение репарации ДНК вследствие подавления активности EGFR и, как следствие, ускоренное накопление соматических мутаций [27]. Оказалось, что после прекращения анти-EGFR терапии доля вновь возникших клонов с мутациями *RAS* часто снижается, а это служит основанием для повторного назначения цетуксимаба или панитумумаба [14, 15].

В совокупности эти данные говорят о том, что концепция «эволюционного» преимущества *RAS*-мутированных клеток является сильным упрощением и не всегда отражает естественную динамику развития РТК. Некоторые опухоли представляют собой пример «экосистемы», где *RAS*-мутантные клоны соседствуют со злокачественными клетками, которые отличаются нормальным статусом гена *RAS*. Сосуществование клеток с различным статусом драйверных мутаций было обнаружено и в других типах опухолей. Есть основания полагать, что эта внутриопухолевая гетерогенность не результат случайной экспансии отдельных злокачественных клонов, а фундаментальное биологическое свойство, гарантирующее пластичность опухоли и адаптацию к давлению внешних факторов [28, 29].

Мутации *BRAF*

Примерно 5–10% опухолей толстой кишки содержат активирующую мутацию V600E в онкогене *BRAF*. Киназа *BRAF* является участником сигнального каскада MAPK, поэтому возникающие в ней активирующие мутации, как и в случае с генами *RAS*, с большой вероятностью обеспечивают независимость опухоли от функционального состояния тирозинкиназы EGFR. Совокупный анализ имеющихся клинических исследований в целом подтверждает эту концепцию [30]. Вместе с тем есть некоторые, пока необъяснимые, клинические наблюдения, которые свидетельствуют о том, что добавление анти-EGFR антител к отдельным схемам химиотерапии может увеличить эффективность лечения пациентов с мутацией *BRAF* [31]. Следует отметить, что при проведении клинических испытаний с участием больных с мутациями *BRAF* возникают затруднения в плане набора достаточного числа пациентов из-за редкости этого генетического события [12, 30].

Опухоли с мутацией *BRAF* V600E отличаются агрессивным поведением и плохим прогнозом. Лечение этих РТК рекомендуется начинать с интенсивной химиотерапии в сочетании с таргетным ингибитором фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) – бевацизумабом [12, 30]. Монотерапия ингибиторами *BRAF* оказалась малоэффективной, поскольку опухоли адаптируются к этому воздействию путем активации коллатеральных путей каскада EGFR-MAPK [32]. Некоторые исследования подтвердили эффективность комбинированного применения ингибиторов EGFR и *BRAF* V600E, при этом добавление ингибитора MEK в качестве третьего препарата не привело к значимому с медицинской точки зрения улучшению



результатов лечения [33, 34]. Двойная терапия, состоящая из цетуксимаба и энкорафениба, недавно была одобрена Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных препаратов США (The United States Food and Drug Administration, FDA) [30].

Некоторые виды РТК содержат «необычные» мутации *BRAF*, затрагивающие кодоны 594, 596, 597 или 601 [35]. Микромутации в позициях 594 и 596 не активируют фермент, тогда как замены, затрагивающие кодоны 597 или 601, приводят к активации киназы *BRAF* [36]. Описаны случаи клинического ответа на ингибитор *BRAF*-киназы вемурафениб в опухолях с заменами в кодоне 597 [37, 38]; напротив, опухоли с мутациями в позиции 601 не являются мишенью для специфических *BRAF*-ингибиторов [39]. Анализ активирующих мутаций *BRAF* представляет собой довольно простую процедуру: как правило, его выполняют с помощью коммерческих наборов для аллель-специфической ПЦР или стандартного секвенирования ДНК по Сэнгеру.

Микросателлитная нестабильность

Некоторые РТК накапливают большое количество точечных мутаций из-за дефицита системы репарации неспаренных оснований ДНК (англ. mismatch repair, MMR). Такие опухоли содержат многочисленные генетические изменения в повторяющихся нуклеотидных последовательностях, называемых микросателлитами (например, ...AAAAAA... или ...CACACACA... и т.д.). Данная генетическая аномалия получила название микросателлитной нестабильности высокого уровня (англ. high-level microsatellite instability, MSI-H).

Исторически сложилось так, что об открытии феномена микросателлитной нестабильности одновременно сообщили несколько исследовательских групп, при этом критерии для описания этого фенотипа различались в зависимости от лаборатории. Доктор Мануэль Перучо (Manuel Perucho), чья группа, по-видимому, первой представила к публикации статью, описывающую фенотип MSI, предложил сосредоточиться на изменении длины моноклеотидных маркеров; в других работах подчеркивалась роль динуклеотидных повторов. В результате совместных усилий была разработана аналитическая ПЦР-панель Bethesda, состоящая из двух моно- и трех динуклеотидных маркеров (BAT-25, BAT-26, D2S123, D5S346, D17S250) [40–43]. Для данной панели была предложена трехуровневая классификация РТК: MSS («микросателлитно-стабильный» фенотип), MSI-H (неоплазмы, содержащие

изменения в большинстве анализируемых маркеров) и MSI-L (промежуточное состояние, когда изменены единичные маркеры) [41]. В дальнейшем выяснилось, что фенотип MSI-H имеет наибольшее клиническое значение и что использование моноклеотидных, но не динуклеотидных маркеров является предпочтительным для надежной дискриминации между MSI-H и MSS/MSI-L опухолями. Для практического внедрения теста оказалось немаловажным и то обстоятельство, что динуклеотидные маркеры по своей природе высокополиморфны, и поэтому необходим анализ нормальной ДНК, полученной от того же пациента, тогда как некоторые квазимонорфные моноклеотидные микросателлиты могут быть проанализированы без сравнения с контрольным образцом ДНК [44–46]. Тест на MSI-H включает в себя электрофоретическую оценку длины анализируемых маркеров – дополнительную, относительно сложную манипуляцию, проводимую после ПЦР-амплификации. К счастью, этот фенотип можно также выявить с помощью иммуногистохимического (ИГХ) окрашивания ключевых белков, участвующих в репарации неспаренных оснований ДНК. Фенотип MMR-D (англ. DNA mismatch repair (MMR) deficiency) проявляется в отсутствие экспрессии белков MLH1, MSH2, MSH6 или PMS2. Эти репарационные белки образуют гетеродимеры (MLH1/PMS2 и MSH2/MSH6), поэтому инактивация гена *MLH1* обычно приводит к одновременной потере PMS2; аналогично, инактивация *MSH2* сопровождается отсутствием окрашивания MSH6. Изолированная потеря экспрессии MSH6 и PMS2 указывает на инактивацию генов *MSH6* или *PMS2* соответственно [47]. Считается, что результаты анализа MSI-H/MMR-D с помощью ПЦР и ИГХ имеют высокую конкордантность, однако необходимо помнить, что обе процедуры подвержены ошибкам и, следовательно, необходим строгий контроль качества [48, 49]. В дополнение к ПЦР или ИГХ фенотип MSI-H/MMR-D может быть надежно выявлен с помощью NGS [43].

Открытие MSI-H первоначально рассматривалось как прогресс в фундаментальном понимании патогенеза опухолей, а клиническое применение тестирования MSI-H ограничивалось выявлением пациентов, которым требовалось генетическое тестирование по поводу синдрома Линча. Впоследствии выяснилось, что фенотип MSI-H/MMR-D связан с рядом клинически важных параметров РТК: снижением риска рецидива после операции, а также чувствительностью опухоли к ингибиторам контрольных точек иммунного



ответа. Таким образом, феномен MSI-H/MMR-D в настоящее время приобрел огромное медицинское значение, а значит, правильное использование этого теста – важнейший компонент лечения РТК [43, 47, 50].

Выраженная микросателлитная нестабильность относится к обязательным признакам наследственных РТК, возникающих у людей с синдромом Линча. Обычно это пациенты с относительно ранней манифестацией заболевания (<50 лет), имеющие семейный анамнез колоректального, эндометриального и некоторых других видов рака. Причиной MSI-H/MMR-D может также выступать соматическая инактивирующая мутация в одном из генов *MMR* (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*) либо гиперметилирование промотора *MLH1* – такие РТК обычно возникают в пожилом возрасте [43, 47, 50].

В исследованиях, проведенных в западных странах, обнаружено, что фенотип MSI-H/MMR-D имеют 10–15% РТК; эти частоты могут быть значительно ниже в некоторых других выборках пациентов [51]. Данный феномен более характерен для пациентов с локализованными формами РТК по сравнению с метастатическими [43, 47, 50]. Фенотип MSI-H/MMR-D обычно коррелирует с пониженным риском рецидива у пациентов, получивших хирургическое лечение. Анализ многочисленных исследований показал, что при наличии микросателлитной нестабильности в РТК стадии II следует воздержаться от послеоперационного лекарственного лечения [43, 47, 50].

Дефицит системы MMR приводит к накоплению различных микромутаций: мутационная нагрузка опухоли (англ. tumor mutation burden, TMB) в этих новообразованиях может на два порядка превышать количество мутаций, наблюдаемых в «стабильных» опухолях. Высокий уровень TMB проявляется в обилии опухолевых антигенов (неоантигенов), что обеспечивает иммуногенность MSI-H/MMR-D опухолей и их чувствительность к иммуномодулирующим препаратам. Действительно, существует несколько клинических исследований, в которых показана высокая эффективность иммунной терапии по отношению к РТК с микросателлитной нестабильностью. В частности, ингибитор иммунных контрольных точек пембролизумаб был одобрен для лечения MSI-H/MMR-D РТК как в первой линии, так и в отношении опухолей, ранее подвергавшихся воздействию цитотоксических препаратов [52, 53]. Кроме того, лечение РТК с дефицитом системы репарации MMR, резистентных к химиотерапии, может проводиться с использованием ингибитора

PD-1 ниволумаба в качестве монотерапии или в комбинации с ингибитором CTLA-4 ипилимумабом [54].

Сочетание мутации *BRAF*V600E

и микросателлитной нестабильности

Почти половина опухолей с мутацией *BRAF*V600E, наблюдаемых у пожилых пациентов (старше 70 лет), имеют фенотип MSI-H, и наоборот – почти 50% спорадических РТК с поздним дебютом, имеющих фенотип MSI-H, содержат мутацию *BRAF*V600E [55, 56]. Закономерно предположить, что опухоли, сочетающие обе генетические аномалии, потенциально чувствительны как к ингибированию *BRAF*V600E, так и к блокаде контрольных точек иммунного ответа. На данный момент опыт лечения таких новообразований ограничивается применением только одного из этих вариантов [34, 52]. Однако уже получены доказательства перекрестного взаимодействия между путями EGFR-BRAF-MAPK и иммунными сигнальными каскадами [57]. Возможно, что комбинированное ингибирование EGFR/BRAF и контрольных точек иммунного ответа приведет к резкому улучшению результатов лечения этой категории РТК. В настоящее время проводится испытание комбинации цетуксимаба, энкорафениба и ниволумаба при колоректальном раке с сочетанием *BRAF*V600E и MSI-H (NCT04017650).

Гиперэкспрессия *HER2*

Примерно 5% РТК с *RAS/RAF* «дикого типа» обусловлены гиперактивацией онкогена *HER2*. Первоначально *HER2* изучали в качестве драйвера рака молочной железы. На примере рака этой локализации было неоднократно показано, что амплификация *HER2* почти всегда сопровождается гиперэкспрессией гена, поэтому было предложено использовать FISH и ИГХ как взаимозаменяемые тесты [58]. Между тем биология опухоли молочной железы и колоректального рака имеет некоторые различия. Оказалось, что у отдельных видов РТК есть дополнительные копии гена *HER2*, которые не приводят к повышенной продукции белка *HER2*. Эта «непродуктивная» амплификация *HER2* не является взаимоисключающей с другими активирующими генетическими событиями в сигнальном каскаде MAPK и не связана с клинической эффективностью ингибиторов *HER2* [59].

«Подлинная» активация *HER2*, которая обычно проявляется сочетанием амплификации и гиперэкспрессии *HER2*, связана с отсутствием реакции опухоли на анти-EGFR терапию. Существует несколько успешных клинических исследований,



выполненных на *HER2*-ассоциированном РТК, в которых блокада *HER2* достигалась при помощи комбинации двух анти-*HER2* препаратов. Например, A. Sartore-Bianchi и соавт. показали высокую эффективность комбинации трастузумаба и лапатиниба [60]; F. Meric-Bernstam и соавт. получили хорошие результаты применения комбинации пертузумаба и трастузумаба [59]. В настоящее время проводится ряд клинических испытаний с использованием различных новых терапевтических схем, нацеленных на инактивацию тирозинкиназы *HER2* [61, 62].

Новые молекулярные маркеры и терапевтические подходы

Более чем в половине случаев РТК встречаются мутации в онкогенах *KRAS* или *NRAS*. Этим пациентам противопоказана анти-EGFR терапия, и потому они имеют ограниченные возможности для лечения. Разработка специфических ингибиторов мутантных белков RAS очень сложна из-за их небольшого размера и высокого сродства к их ферментативному субстрату, гуанозинтрифосфату. На данный момент только ингибиторы мутантного белка *KRAS* с заменой глицина на цистеин в кодоне 12 (*KRAS* G12C) смогли выйти на заключительные фазы клинических испытаний. Мутация *KRAS* G12C встречается примерно в 15% немелкоклеточных опухолей легкого, в основном у курильщиков [63], но относительно редко при РТК. Частота этой замены среди метастатического РТК составляет около 4%, на ее долю приходится примерно 1 из 12 мутаций *KRAS* [64]. Недавнее исследование ингибитора *KRAS* G12C соторасиба (AMG 510) включало 42 пациента с РТК; у 3 (7%) пациентов наблюдался частичный ответ, а в 28 (67%) случаях зарегистрирована стабилизация заболевания [65]. Доклинические исследования показывают, что комбинированная инактивация *KRAS* G12C и EGFR может предотвратить резистентность РТК к монотерапии ингибитором *KRAS* [66].

Мутации RAS приводят к повышению активности киназы MEK, однако, вопреки ожиданиям, ингибиторы MEK не показывают значительной клинической эффективности в отношении RAS-мутированных опухолей. Некоторые данные говорят о том, что резистентность опухоли к ингибированию MEK может быть связана с особым механизмом программируемой клеточной смерти – аутофагией. Как установлено в доклинических экспериментах с участием пациентов с *KRAS*-ассоциированным раком поджелудочной железы, добавление ингибитора аутофагии

гидроксихлорохина может повысить эффективность антагонистов MEK [67, 68]. Описан случай хорошего ответа РТК, несущего мутацию *KRAS* G12D, на комбинацию биниметиниба, гидроксихлорохина и бевацизумаба [69]. С учетом того, что почти у миллиона человек в мире ежегодно развивается RAS-ассоциированный РТК, этот новый подход может оказаться крайне востребованным.

Микросателлитная нестабильность, вызванная инактивацией генов системы репарации неспаренных оснований, выступает наиболее частой причиной избыточной мутационной нагрузки опухоли и, соответственно, ее чувствительности к иммунной терапии. Существуют и другие разновидности РТК, вызванные инактивацией репарации ДНК. Например, *MUTYH*-ассоциированный РТК – редкий пример рецессивного наследственного опухолевого синдрома, который характеризуется дефицитом эксцизионной репарации оснований ДНК. Карциномы с биаллельной инактивацией гена *MUTYH* накапливают огромное количество трансверсий G:C>T:A. Эти опухоли реагируют на блокаду контрольных точек иммунного ответа [64]. У пациентов с биаллельной инактивацией гена *MUTYH* возникновение РТК происходит путем активации RAS-пути через замену *KRAS* G12C, поэтому весьма целесообразно проводить скрининг людей с *KRAS* G12C-позитивным РТК на наличие герминальных мутаций в гене *MUTYH* [64, 70].

POLE-ассоциированный РТК – еще один пример редкой разновидности неоплазм со сверхвысокой мутационной нагрузкой. Мутации в экзонуклеазном домене гена *POLE* приводят к чрезмерному количеству ошибок, возникающих при репликации ДНК. Существуют опухоли, развивающиеся вследствие наследования патогенного аллеля *POLE*, а также спорадические случаи РТК с соматической инактивацией гена *POLE*. Дефицит *POLE* связан с ответом опухоли на ингибиторы контрольных точек иммунного ответа [71, 72].

Активирующие перестройки с участием рецепторных тирозинкиназ характерны в основном для немелкоклеточных карцином легкого, а также некоторых опухолей у детей [73, 74]. Было неоднократно продемонстрировано, что активация киназ вследствие слияния генов может происходить в опухолях толстой кишки с микросателлитной нестабильностью, возникающей в результате соматического метилирования промотора гена *MLH1* [75–77]. Опухоли, несущие активирующие перестройки, реагируют на введение соответствующих таргетных препаратов [78, 79].



Наследственная предрасположенность к раку толстой кишки

Приблизительно 3% случаев РТК развиваются из-за наследственных мутаций в генах системы репарации неспаренных оснований (*MMR*). Это заболевание называется синдромом Линча и становится причиной наследственного неполипозного рака толстой кишки (ННРТК). Синдром Линча связан с наследственными патогенными вариантами, затрагивающими гены *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* или *PMS2*. Пятый ген ННРТК *EPCAM* участвует в патогенезе заболевания опосредованно, через инактивацию гена *MSH2*. Исследования наследственных детерминант ННРТК изначально были сосредоточены на анализе крупных «раковых» родословных, в этих работах пенетрантность мутаций в вышеупомянутых генах расценивалась как очень высокая. Изобретение NGS привело к повышению доступности скрининга полного спектра мутаций в генах ННРТК, были исследованы большие когорты пациентов с РТК и здоровых индивидуумов. Сегодня считается, что индивидуальный риск развития РТК у носителей наследственных вариантов в генах *MLH1* и *MSH2* находится в диапазоне от 40 до 80%. Наследование мутаций в генах *MSH6* и *PMS2* ассоциируется с 10–20% вероятностью развития РТК в течение жизни, что всего в 2–4 раза выше, чем в среднем в популяции. Вклад синдрома Линча в структуру заболеваемости РТК существенно различается в зависимости от страны [80–84].

Опухоли, ассоциированные с синдромом Линча, всегда имеют фенотип MSI. В настоящее время всем пациентам с РТК проводят тестирование на фенотип MSI-H/MMR-D; следовательно, этот анализ одновременно служит скрининговым тестом на ННРТК. При анализе наследственных вариантов в генах *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2* и *EPCAM* следует рассматривать как точечные мутации (транквирующие или патогенные миссенс-мутации), так и крупные генные перестройки. Сегодня анализ генетических вариантов, ассоциированных с синдромом Линча, почти всегда проводится методом NGS [85, 86].

Зарегистрированы многочисленные случаи семейных колоректальных опухолей, не имеющих фенотип MSI-H/MMR-D и не связанных с патогенными вариантами *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2* или *EPCAM*. Несмотря на интенсивные исследовательские усилия, пока доказана достоверная ассоциация с ННРТК только одного гена – *RPS20*. Наследственные мутации в гене *RPS20* встречаются исключительно редко, и их распространение ограничено определенными этническими

группами [81, 84]. Кроме того, существует ряд генов, связанных с полипозом толстой кишки и последующим развитием РТК. Доминантные мутации в гене *APC* – наиболее изученная причина этого заболевания. Другие генетические причины полипоза и РТК встречаются относительно редко и включают изменения в генах *MUTYH*, *POLE*, *POLD1*, *NTHL1*, *MSH3*, *STK11*, *SMAD4*, *PTEN*, *GERM1* и некоторых других [81–83].

Жидкостная биопсия

У многих онкологических больных в плазме крови обнаруживается бесклеточная опухолевая ДНК, что, вероятно, связано с распадом злокачественных клеток и последующим выходом ДНК в кровоток. Как показывают некоторые исследования, сверхчувствительное обнаружение мутаций в генах, характерных для РТК, может облегчить скрининг опухолей толстой кишки, особенно в сочетании с использованием других маркеров [87, 88]. Анализ циркулирующей опухолевой ДНК (цоДНК) может быть использован для контроля эффективности хирургического лечения опухоли. Предполагается, что пациенты, у которых не обнаруживается цоДНК после операции, имеют хороший долгосрочный прогноз и не нуждаются в адъювантной терапии, в то время как пациенты с остаточной цоДНК в кровотоке нуждаются в лекарственном лечении для снижения риска рецидива заболевания [89–91]. Послеоперационный мониторинг на наличие специфических для РТК мутаций может способствовать раннему выявлению рецидива опухоли [92]. Успешная лекарственная терапия сопровождается быстрым снижением концентрации цоДНК, а сохранение стабильного уровня цоДНК свидетельствует об отсутствии эффективности лечения [93]. Жидкостная биопсия позволяет обнаружить вторичные мутации, которые связаны с приобретенной устойчивостью опухоли к терапии [94]. Исчезновение этих «циркулирующих» мутаций из крови дает основание для повторного применения того же таргетного препарата [95]. Различные варианты применения анализа цоДНК стали объектом изучения во многих текущих клинических испытаниях [96].

Заключение

Рак толстой кишки был первым видом рака, молекулярное тестирование которого стало обязательным компонентом терапевтических решений. Действительно, оценка мутационного статуса *KRAS* была включена в протоколы назначения панитумумаба и цетуксимаба уже в 2009 г., то есть за



некоторое время до включения анализа мутации *EGFR* в рекомендации по лечению немелкоклеточного рака легкого. В настоящее время все случаи РТК подвергаются комплексному генетическому анализу соматических мутаций, а некоторым

пациентам проводится анализ наследственных генетических вариантов. Быстрое распространение технологии NGS, вероятно, существенно повлияет на процедуры скрининга, диагностики, лечения и мониторинга РТК. ☞

Дополнительная информация

Финансирование

Данная работа поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований № 20-315-90097.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов

Все авторы внесли равный вклад в написание статьи. Все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией, согласны нести ответственность за все аспекты работы и гарантируют, что ими надлежащим образом были рассмотрены и решены вопросы, связанные с точностью и добросовестностью всех частей работы.

Литература / References

1. 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. doi: 10.3322/caac.21492.
2. Baran B, Mert Ozupek N, Yerli Tetik N, Acar E, Bekcioglu O, Baskin Y. Difference between left-sided and right-sided colorectal cancer: A focused review of literature. *Gastroenterology Res.* 2018;11(4):264–273. doi: 10.14740/gr1062w.
3. Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, Kasi PM, Wallace MB. Colorectal cancer. *Lancet.* 2019;394(10207):1467–1480. doi: 10.1016/S0140-6736(19)32319-0.
4. Farooqi AA, de la Roche M, Djamgoz MBA, Siddik ZH. Overview of the oncogenic signaling pathways in colorectal cancer: Mechanistic insights. *Semin Cancer Biol.* 2019;58:65–79. doi: 10.1016/j.semcancer.2019.01.001.
5. Koncina E, Haan S, Rauh S, Letellier E. Prognostic and predictive molecular biomarkers for colorectal cancer: Updates and challenges. *Cancers (Basel).* 2020;12(2):319. doi: 10.3390/cancers12020319.
6. Raskov H, Søby JH, Troelsen J, Bojesen RD, Gögenur I. Driver Gene Mutations and Epigenetics in Colorectal Cancer. *Ann Surg.* 2020;271(1):75–85. doi: 10.1097/SLA.0000000000003393.
7. Testa U, Castelli G, Pelosi E. Genetic alterations of metastatic colorectal cancer. *Biomedicine.* 2020;8(10):414. doi: 10.3390/biomedicine8100414.
8. Dziubańska-Kusibab PJ, Berger H, Battistini F, Bouwman BAM, Iftekhar A, Katainen R, Caju-so T, Crossetto N, Orozco M, Aaltonen LA, Meyer TF. Colibactin DNA-damage signature indicates mutational impact in colorectal cancer. *Nat Med.* 2020;26(7):1063–1069. doi: 10.1038/s41591-020-0908-2.
9. Janney A, Powrie F, Mann EH. Host-microbiota maladaptation in colorectal cancer. *Nature.* 2020;585(7826):509–517. doi: 10.1038/s41586-020-2729-3.
10. Hu Z, Ding J, Ma Z, Sun R, Seoane JA, Scott Shaffer J, Suarez CJ, Berghoff AS, Cremolini C, Falcone A, Loupakis F, Birner P, Preusser M, Lenz HJ, Curtis C. Quantitative evidence for early metastatic seeding in colorectal cancer. *Nat Genet.* 2019;51(7):1113–1122. doi: 10.1038/s41588-019-0423-x.
11. Patel JN, Fong MK, Jagosky M. Colorectal cancer biomarkers in the era of personalized medicine. *J Pers Med.* 2019;9(1):3. doi: 10.3390/jpm9010003.
12. Taieb J, Jung A, Sartore-Bianchi A, Peeters M, Seligmann J, Zaanan A, Burdon P, Montagut C, Laurent-Puig P. The evolving biomarker landscape for treatment selection in metastatic colorectal cancer. *Drugs.* 2019;79(13):1375–1394. doi: 10.1007/s40265-019-01165-2.
13. Sveen A, Kopetz S, Lothe RA. Biomarker-guided therapy for colorectal cancer: strength in complexity. *Nat Rev Clin Oncol.* 2020;17(1):11–32. doi: 10.1038/s41571-019-0241-1.
14. Martinelli E, Ciardiello D, Martini G, Troiani T, Cardone C, Vitiello PP, Normanno N, Rachiglio AM, Maiello E, Latiano T, De Vita F, Ciardiello F. Implementing anti-epidermal growth factor receptor (EGFR) therapy in metastatic colorectal cancer: challenges and future perspectives. *Ann Oncol.* 2020;31(1):30–40. doi: 10.1016/j.annonc.2019.10.007.
15. Martini G, Ciardiello D, Vitiello PP, Napolitano S, Cardone C, Cuomo A, Troiani T, Ciardiello F, Martinelli E. Resistance to anti-epidermal growth factor receptor in metastatic colorectal cancer: What does still need to be addressed? *Cancer Treat Rev.* 2020;86:102023. doi: 10.1016/j.ctrv.2020.102023.
16. Moiseyenko VM, Moiseyenko FV, Yanus GA, Kuligina ES, Sokolenko AP, Bizin IV, Kudriavtsev AA, Aleksakhina SN, Volkov NM, Chubenko VA, Kozyreva KS, Kramchaninov MM, Zhuravlev AS, Shelekhova KV, Pashkov DV, Ivantsov AO, Venina AR, Sokolova TN, Preobrazhenskaya EV, Mitiushkina NV, Togo AV, Iyevleva AG, Imyaninov EN. First-line cetuximab monotherapy in KRAS/NRAS/BRAF mutation-negative colorectal cancer patients. *Clin Drug Investig.* 2018;38(6):553–562. doi: 10.1007/s40261-018-0629-1.
17. Douillard JY, Oliner KS, Siena S, Tabernero J, Burkes R, Barugel M, Humblet Y, Bodoky G, Cunningham D, Jassem J, Rivera F, Kocáková I, Ruff P, Błasińska-Morawiec M, Šmakal M, Canon JL, Rother M, Williams R, Rong A, Wizezorek J, Sidhu R, Patterson SD. Panitumumab-FOLFOX4 treatment and RAS mutations in colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2013;369(11):1023–1034. doi: 10.1056/NEJMoa1305275.
18. Sepulveda AR, Hamilton SR, Allegra CJ, Grody W, Cushman-Vokoun AM, Funkhouser WK, Kopetz SE, Lieu C, Lindor NM, Minsky BD, Monzon FA, Sargent DJ, Singh VM, Willis J, Clark J, Colasacco C, Rumble RB, Temple-Smolkin R, Ventura CB, Nowak JA. Molecular Biomarkers for the Evaluation of Colorectal Cancer: Guideline From the American Society for Clinical Pathology, College of American Pathologists, Association of Molecular Pathology, and the American Society of Clinical Oncology. *J Clin Oncol.* 2017;35(13):1453–1486. doi: 10.1200/JCO.2016.71.9807.
19. Lakatos G, Köhne CH, Bodoky G. Current therapy of advanced colorectal cancer according to RAS/RAF mutational status. *Cancer Metastasis Rev.* 2020;39(4):1143–1157. doi: 10.1007/s10555-020-09913-7.
20. Udar N, Lofton-Day C, Dong J, Vavrek D, Jung AS, Meier K, Iyer A, Slaughter R, Gutekunst K, Bach BA, Peeters M, Douillard JY. Clinical validation of the next-generation sequencing-based Extended RAS Panel assay using metastatic colorectal cancer patient samples from the phase 3 PRIME study. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2018;144(10):2001–2010. doi: 10.1007/s00432-018-2688-3.
21. Del Vecchio F, Mastroiaco V, Di Marco A, Compagnoni C, Capece D, Zazzeroni F, Capalbo C, Alesse E, Tessitore A. Next-generation sequencing: recent applications to the analysis of colorectal cancer. *J Transl Med.* 2017;15(1):246. doi: 10.1186/s12967-017-1353-y.



22. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*. 1990;61(5):759–767. doi: 10.1016/0092-8674(90)90186-i.
23. Van Cutsem E, Lenz HJ, Köhne CH, Heinemann V, Tejpar S, Melezínek I, Beier F, Stroh C, Rougier P, van Krieken JH, Ciardiello F. Fluorouracil, leucovorin, and irinotecan plus cetuximab treatment and RAS mutations in colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2015;33(7):692–700. doi: 10.1200/JCO.2014.59.4812.
24. Normanno N, Rachiglio AM, Lambiasi M, Martinelli E, Fenizia F, Esposito C, Roma C, Troiani T, Rizzi D, Tatangelo F, Botti G, Maiello E, Colucci G, Ciardiello F; CAPRI-GOIM investigators. Heterogeneity of KRAS, NRAS, BRAF and PIK3CA mutations in metastatic colorectal cancer and potential effects on therapy in the CAPRI GOIM trial. *Ann Oncol*. 2015;26(8):1710–1714. doi: 10.1093/annonc/mdv176.
25. Santos C, Azuara D, Viéitez JM, Páez D, Falcó E, Élez E, López-López C, Valladares M, Robles-Díaz L, García-Alfonso P, Bugés C, Durán G, Salud A, Navarro V, Capellá G, Aranda E, Salazar R. Phase II study of high-sensitivity genotyping of KRAS, NRAS, BRAF and PIK3CA to ultra-select metastatic colorectal cancer patients for panitumumab plus FOLFIRI: the ULTRA trial. *Ann Oncol*. 2019;30(5):796–803. doi: 10.1093/annonc/mdz082.
26. Vidal J, Bellosillo B, Santos Vivas C, García-Alfonso P, Carrato A, Cano MT, García-Carbonero R, Élez E, Losa F, Massutí B, Valladares-Ayerbes M, Viéitez JM, Manzano JL, Azuara D, Gallego J, Pairet S, Capellá G, Salazar R, Taberero J, Aranda E, Montagut C. Ultra-selection of metastatic colorectal cancer patients using next-generation sequencing to improve clinical efficacy of anti-EGFR therapy. *Ann Oncol*. 2019;30(3):439–446. doi: 10.1093/annonc/mdz005.
27. Russo M, Crisafulli G, Sogari A, Reilly NM, Arena S, Lamba S, Bartolini A, Amodio V, Magri A, Novara L, Sarotto I, Nagel ZD, Pieltz CG, Amatu A, Sartore-Bianchi A, Siena S, Bertotti A, Trusolino L, Corigliano M, Gherardi M, Lagomarsino MC, Di Nicolantonio F, Bardelli A. Adaptive mutability of colorectal cancers in response to targeted therapies. *Science*. 2019;366(6472):1473–1480. doi: 10.1126/science.aav4474.
28. Aleksakhina SN, Kashyap A, Imyaninov EN. Mechanisms of acquired tumor drug resistance. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2019;1872(2):188310. doi: 10.1016/j.bbcan.2019.188310.
29. Sokolenko AP, Bizin IV, Preobrazhenskaya EV, Gorodnova TV, Ivantsov AO, Iyevleva AG, Savonevich EL, Kotiv KB, Kuligina ES, Imyaninov EN. Molecular profiles of BRCA1-associated ovarian cancer treated by platinum-based therapy: Analysis of primary, residual and re-lapsed tumors. *Int J Cancer*. 2020;146(7):1879–1888. doi: 10.1002/ijc.32776.
30. Johnson B, Kopetz S. Applying precision to the management of BRAF-mutant metastatic colorectal cancer. *Target Oncol*. 2020;15(5):567–577. doi: 10.1007/s11523-020-00747-5.
31. Modest DP, Martens UM, Riera-Knorrenschild J, Greeve J, Florschütz A, Wessendorf S, Ettrich T, Kanzler S, Nörenberg D, Ricke J, Seidensticker M, Held S, Buechner-Stuedel P, Atzpodien J, Heinemann V, Seufferlein T, Tannapfel A, Reinacher-Schick AC, Geissler M. FOLFOXIRI Plus Panitumumab As First-Line Treatment of RAS Wild-Type Metastatic Colorectal Cancer: The Randomized, Open-Label, Phase II VOLFI Study (AIO KRK0109). *J Clin Oncol*. 2019;37(35):3401–3411. doi: 10.1200/JCO.19.01340.
32. Prahallad A, Sun C, Huang S, Di Nicolantonio F, Salazar R, Zecchin D, Beijersbergen RL, Bardelli A, Bernards R. Unresponsiveness of colon cancer to BRAF(V600E) inhibition through feedback activation of EGFR. *Nature*. 2012;483(7387):100–103. doi: 10.1038/nature10868.
33. Corcoran RB, André T, Atreya CE, Schellens JHM, Yoshino T, Bendell JC, Hollebecque A, McRee AJ, Siena S, Middleton G, Muro K, Gordon MS, Taberero J, Yaeger R, O'Dwyer PJ, Humblet Y, De Vos F, Jung AS, Brase JC, Jaeger S, Bettinger S, Mookerjee B, Rangwala F, Van Cutsem E. Combined BRAF, EGFR, and MEK Inhibition in Patients with BRAFV600E-mutant colorectal cancer. *Cancer Discov*. 2018;8(4):428–443. doi: 10.1158/2159-8290.CD-17-1226.
34. Kopetz S, Grothey A, Yaeger R, Van Cutsem E, Desai J, Yoshino T, Wasan H, Ciardiello F, Loupakis F, Hong YS, Steeghs N, Guren TK, Arkenau HT, Garcia-Alfonso P, Pfeiffer P, Orlov S, Lonardi S, Elez E, Kim TW, Schellens JHM, Guo C, Krishnan A, Dekervel J, Morris V, Calvo Ferrandiz A, Tarpgaard LS, Braun M, Gollerkeri A, Keir C, Maharry K, Pickard M, Christy-Bittel J, Anderson L, Sandor V, Taberero J. Encorafenib, binimetinib, and cetuximab in BRAF V600E-mutated colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2019;381(17):1632–1643. doi: 10.1056/NEJMoa1908075.
35. Jones JC, Renfro LA, Al-Shamsi HO, Schrock AB, Rankin A, Zhang BY, Kasi PM, Voss JS, Leal AD, Sun J, Ross J, Ali SM, Hubbard JM, Kipp BR, McWilliams RR, Kopetz S, Wolff RA, Grothey A. Non-V600 BRAF Mutations Define a Clinically Distinct Molecular Subtype of Metastatic Colorectal Cancer. *J Clin Oncol*. 2017;35(23):2624–2630. doi: 10.1200/JCO.2016.71.4394.
36. Schirripa M, Biason P, Lonardi S, Pella N, Pino MS, Urbano F, Antoniotti C, Cremolini C, Corallo S, Pietrantonio F, Gelsomino F, Cascinu S, Orlandi A, Munari G, Malapelle U, Saggio S, Fontanini G, Rugge M, Mescoli C, Lazzi S, Reggiani Bonetti L, Lanza G, Dei Tos AP, De Maggio G, Martini M, Bergamo F, Zagonel V, Loupakis F, Fassin M. Class 1, 2, and 3 BRAF-mutated metastatic colorectal cancer: A detailed clinical, pathologic, and molecular characterization. *Clin Cancer Res*. 2019;25(13):3954–3961. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-0311.
37. Bahadoran P, Allegra M, Le Duff F, Long-Mira E, Hofman P, Giaccherio D, Passeron T, Lacour JP, Balotti R. Major clinical response to a BRAF inhibitor in a patient with a BRAF L597R-mutated melanoma. *J Clin Oncol*. 2013;31(19):e324–e326. doi: 10.1200/JCO.2012.46.1061.
38. Hallmeyer S, Gonzalez R, Lawson DH, Cranmer LD, Linette GP, Puzanov I, Taback B, Cowey CL, Ribas A, Daniels GA, Moore T, Gibney GT, Tawbi H, Whitman E, Lee G, Mun Y, Liu S, Hamid O. Vemurafenib treatment for patients with locally advanced, unresectable stage IIIC or metastatic melanoma and activating exon 15 BRAF mutations other than V600E. *Melanoma Res*. 2017;27(6):585–590. doi: 10.1097/CMR.0000000000000398.
39. Moiseyenko FV, Egorenkov VV, Kramchaninov MM, Artemieva EV, Aleksakhina SN, Holmatov MM, Moiseyenko VM, Imyaninov EN. Lack of Response to Vemurafenib in Melanoma Carrying BRAF K601E Mutation. *Case Rep Oncol*. 2019;12(2):339–343. doi: 10.1159/000500481.
40. Maddox J. Competition and the death of science. *Nature*. 1993;363(6431):667. doi: 10.1038/363667a0.
41. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, Meltzer SJ, Rodriguez-Bigas MA, Fodde R, Ranzani GN, Srivastava S. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res*. 1998;58(22):5248–5257.
42. Perucho M. Correspondence re: C.R. Boland et al., A National Cancer Institute workshop on microsatellite instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res*. 58: 5248-5257, 1998. *Cancer Res*. 1999;59(1):249–256.
43. Sun BL. Current Microsatellite Instability Testing in Management of Colorectal Cancer. *Clin Colorectal Cancer*. 2021;20(1):e12–e20. doi: 10.1016/j.clcc.2020.08.001.
44. Suraweera N, Duval A, Reperant M, Vauiry C, Furlan D, Leroy K, Seruca R, Iacopetta B, Hamelin R. Evaluation of tumor microsatellite instability using five quasimonomorphic mononucleotide repeats and pentaplex PCR. *Gastroenterology*. 2002;123(6):1804–1811. doi: 10.1053/gast.2002.37070.
45. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, de la Chapelle A, Rüschoff J, Fishel R, Lindor NM, Burgart LJ, Hamelin R, Hamilton SR, Hiatt RA, Jass J, Lindblom A, Lynch HT, Peltomaki P, Ramsey SD, Rodriguez-Bigas MA, Vasen HF, Hawk ET, Barrett JC, Freedman AN, Srivastava S. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst*. 2004;96(4):261–268. doi: 10.1093/jnci/djh034.



46. Buhard O, Lagrange A, Guilloux A, Colas C, Chouchène M, Wanherdrick K, Coulet F, Guillerme E, Dorard C, Marisa L, Bokhari A, Greene M, El-Murr N, Bodo S, Muleris M, Sourouille I, Svrcek M, Cervera P, Blanché H, Lefevre JH, Parc Y, Lepage C, Chapusot C, Bouvier AM, Gaub MP, Selves J, Garrett K, Iacopetta B, Soong R, Hamelin R, Garrido C, Lascols O, André T, Fléjou JF, Collura A, Duval A. HSP110T17 simplifies and improves the microsatellite instability testing in patients with colorectal cancer. *J Med Genet.* 2016;53(6):377–384. doi: 10.1136/jmedgenet-2015-103518.
47. Vilar E, Gruber SB. Microsatellite instability in colorectal cancer—the stable evidence. *Nat Rev Clin Oncol.* 2010;7(3):153–162. doi: 10.1038/nrclinonc.2009.237.
48. Chen W, Frankel WL. A practical guide to biomarkers for the evaluation of colorectal cancer. *Mod Pathol.* 2019;32(Suppl 1):1–15. doi: 10.1038/s41379-018-0136-1.
49. Cohen R, Hain E, Buhard O, Guilloux A, Bardier A, Kaci R, Bertheau P, Renaud F, Bibeau F, Fléjou JF, André T, Svrcek M, Duval A. Association of Primary Resistance to Immune Checkpoint Inhibitors in Metastatic Colorectal Cancer With Misdiagnosis of Microsatellite Instability or Mismatch Repair Deficiency Status. *JAMA Oncol.* 2019;5(4):551–555. doi: 10.1001/jamaoncol.2018.4942.
50. Battaglin F, Naseem M, Lenz HJ, Salem ME. Microsatellite instability in colorectal cancer: overview of its clinical significance and novel perspectives. *Clin Adv Hematol Oncol.* 2018;16(11):735–745.
51. Yanus GA, Belyaeva AV, Ivantsov AO, Kuligina ESh, Suspitsin EN, Mitiushkina NV, Aleksakhina SN, Iyevleva AG, Zaitseva OA, Yatsuk OS, Gorodnova TV, Strelkova TN, Efreмова SA, Lepenchuk AY, Ochir-Garyaev AN, Paneyah MB, Matsko DE, Togo AV, Imyanitov EN. Pattern of clinically relevant mutations in consecutive series of Russian colorectal cancer patients. *Med Oncol.* 2013;30(3):686. doi: 10.1007/s12032-013-0686-5.
52. André T, Shiu KK, Kim TW, Jensen BV, Jensen LH, Punt C, Smith D, Garcia-Carbonero R, Benavides M, Gibbs P, de la Fouchardiere C, Rivera F, Elez E, Bendell J, Le DT, Yoshino T, Van Cutsem E, Yang P, Farooqui MZH, Marinello P, Diaz LA Jr; KEYNOTE-177 Investigators. Pembrolizumab in microsatellite-instability-high advanced colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2020;383(23):2207–2218. doi: 10.1056/NEJMoa2017699.
53. Le DT, Kim TW, Van Cutsem E, Geva R, Jäger D, Hara H, Burge M, O'Neil B, Kavan P, Yoshino T, Guimbaud R, Taniguchi H, Elez E, Al-Batran SE, Boland PM, Crocenzi T, Atreya CE, Cui Y, Dai T, Marinello P, Diaz LA Jr, André T. Phase II Open-Label Study of Pembrolizumab in Treatment-Refractory, Microsatellite Instability-High/Mismatch Repair-Deficient Metastatic Colorectal Cancer: KEYNOTE-164. *J Clin Oncol.* 2020;38(1):11–19. doi: 10.1200/JCO.19.02107.
54. Overman MJ, Lonardi S, Wong KYM, Lenz HJ, Gelsomino F, Aglietta M, Morse MA, Van Cutsem E, McDermott R, Hill A, Sawyer MB, Hendlitz A, Neyns B, Svrcek M, Moss RA, Ledezine JM, Cao ZA, Kamble S, Kopetz S, André T. Durable Clinical Benefit With Nivolumab Plus Ipilimumab in DNA Mismatch Repair-Deficient/Microsatellite Instability-High Metastatic Colorectal Cancer. *J Clin Oncol.* 2018;36(8):773–779. doi: 10.1200/JCO.2017.76.9901.
55. Lochhead P, Kuchiba A, Imamura Y, Liao X, Yamauchi M, Nishihara R, Qian ZR, Morikawa T, Shen J, Meyerhardt JA, Fuchs CS, Ogino S. Microsatellite instability and BRAF mutation testing in colorectal cancer prognostication. *J Natl Cancer Inst.* 2013;105(15):1151–1156. doi: 10.1093/jnci/djt173.
56. Venderbosch S, Nagtegaal ID, Maughan TS, Smith CG, Cheadle JP, Fisher D, Kaplan R, Quirke P, Seymour MT, Richman SD, Meijer GA, Ylstra B, Heideman DA, de Haan AF, Punt CJ, Koopman M. Mismatch repair status and BRAF mutation status in metastatic colorectal cancer patients: a pooled analysis of the CAIRO, CAIRO2, COIN, and FOCUS studies. *Clin Cancer Res.* 2014;20(20):5322–5330. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-0332.
57. Giordano G, Remo A, Porras A, Pancione M. Immune Resistance and EGFR antagonists in colorectal cancer. *Cancers (Basel).* 2019;11(8):1089. doi: 10.3390/cancers11081089.
58. Sauter G, Lee J, Bartlett JM, Slamon DJ, Press MF. Guidelines for human epidermal growth factor receptor 2 testing: biologic and methodologic considerations. *J Clin Oncol.* 2009;27(8):1323–1333. doi: 10.1200/JCO.2007.14.8197.
59. Meric-Bernstam F, Hurwitz H, Raghav KPS, McWilliams RR, Fakhri M, VanderWalde A, Swanton C, Kurzrock R, Burris H, Sweeney C, Bose R, Spigel DR, Beattie MS, Blotner S, Stone A, Schulze K, Cuchelkar V, Hainsworth J. Pertuzumab plus trastuzumab for HER2-amplified metastatic colorectal cancer (MyPathway): an updated report from a multicentre, open-label, phase 2a, multiple basket study. *Lancet Oncol.* 2019;20(4):518–530. doi: 10.1016/S1470-2045(18)30904-5.
60. Sartore-Bianchi A, Trusolino L, Martino C, Ben-cardino K, Lonardi S, Bergamo F, Zagonel V, Leone F, Depetris I, Martinelli E, Troiani T, Ciardiello F, Racca P, Bertotti A, Siravegna G, Torri V, Amatu A, Ghezzi S, Marrapese G, Palmeri L, Val-torta E, Cassingena A, Lauricella C, Vanzulli A, Regge D, Veronese S, Comoglio PM, Bardelli A, Marsoni S, Siena S. Dual-targeted therapy with trastuzumab and lapatinib in treatment-refractory, KRAS codon 12/13 wild-type, HER2-positive metastatic colorectal cancer (HERACLES): a proof-of-concept, multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2016;17(6):738–746. doi: 10.1016/S1470-2045(16)00150-9.
61. De Cuyper A, Van Den Eynde M, Machiels JP. HER2 as a Predictive Biomarker and Treatment Target in Colorectal Cancer. *Clin Colorectal Cancer.* 2020;19(2):65–72. doi: 10.1016/j.clcc.2020.02.007.
62. Nowak JA. HER2 in Colorectal Carcinoma: Are We There yet? *Surg Pathol Clin.* 2020;13(3):485–502. doi: 10.1016/j.path.2020.05.007.
63. Mitiushkina NV, Kholmatov MM, Venina AR, Tiurin VI, Yanus GA, Sokolova TN, Yatsuk OS, Zaitseva OA, Ivantsov AO, Kuligina ES, Togo AV, Imyanitov EN. PCR-based detection of EGFR, ALK, KRAS and BRAF mutations in Russian patients with lung adenocarcinoma: a single-center experience. *Neoplasma.* 2018;65(6):972–979. doi: 10.4149/neo_2018_171225N843.
64. Volkov NM, Yanus GA, Ivantsov AO, Moiseenko FV, Matorina OG, Bizin IV, Moiseyenko VM, Imyanitov EN. Efficacy of immune checkpoint blockade in MUTYH-associated hereditary colorectal cancer. *Invest New Drugs.* 2020;38(3):894–898. doi: 10.1007/s10637-019-00842-z.
65. Hong DS, Fakhri MG, Strickler JH, Desai J, Durm GA, Shapiro GI, Falchook GS, Price TJ, Sacher A, Denlinger CS, Bang YJ, Dy GK, Krauss JC, Kuboki Y, Kuo JC, Coveler AL, Park K, Kim TW, Barlesi F, Munster PN, Ramalingam SS, Burns TF, Meric-Bernstam F, Henary H, Ngang J, Ngarmchamnarnith G, Kim J, Houk BE, Canon J, Lipford JR, Friberg G, Lito P, Govindan R, Li BT. KRASG12C inhibition with sotorasib in advanced solid tumors. *N Engl J Med.* 2020;383(13):1207–1217. doi: 10.1056/NEJMoa1917239.
66. Amodio V, Yaeger R, Arcella P, Celliere C, Lamba S, Lorenzato A, Arena S, Montone M, Mussolin B, Bian Y, Whaley A, Pinnelli M, Murciano-Goroff YR, Vakiani E, Valeri N, Liao WL, Bhalkikar A, Thyparambil S, Zhao HY, de Stanchina E, Marsoni S, Siena S, Bertotti A, Trusolino L, Li BT, Rosen N, Di Nicolantonio F, Bardelli A, Misale S. EGFR blockade reverts resistance to KRASG12C inhibition in colorectal cancer. *Cancer Discov.* 2020;10(8):1129–1139. doi: 10.1158/2159-8290.CD-20-0187.
67. Kinsey CG, Camolotto SA, Boespflug AM, Guillen KP, Foth M, Truong A, Schuman SS, Shea JE, Seipp MT, Yap JT, Burrell LD, Lum DH, Whisenant JR, Gilcrease GW 3rd, Cavalieri CC, Rehbein KM, Cutler SL, Affolter KE, Welm AL, Welm BE, Scaife CL, Snyder EL, McMahon M. Protective autophagy elicited by RAF→MEK→ERK inhibition suggests a treatment strategy for RAS-driven cancers. *Nat Med.* 2019;25(4):620–627. doi: 10.1038/s41591-019-0367-9.
68. Xavier CB, Marchetti KR, Castria TB, Jardim DLF, Fernandes GS. Trametinib and Hydroxychloroquine (HCQ) combination treatment in KRAS-mutated advanced pancreatic adenocarcinoma: detailed description of two cases. *J Gastrointest Cancer.* 2021;52(1):374–380. doi: 10.1007/s12029-020-00556-z.
69. Orlov SV, Urtenova MA, Sviridenko MA, Nestorov DV, Sokolova TN, Imyanitov EN. Rapid



- improvement of the performance status and reduction of the tumor size in KRAS-mutated colorectal cancer patient receiving binimetinib, hydroxychloroquine, and bevacizumab. *Case Rep Oncol.* 2020;13(2):985–989. doi: 10.1159/000509241.
70. van Puijjenbroek M, Nielsen M, Tops CM, Halfwerk H, Vasen HF, Weiss MM, van Wezel T, Hes FJ, Morreau H. Identification of patients with (atypical) MUTYH-associated polyposis by KRAS2 c.34G>T prescreening followed by MUTYH hotspot analysis in formalin-fixed paraffin-embedded tissue. *Clin Cancer Res.* 2008;14(1):139–142. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1705.
71. Gong J, Wang C, Lee PP, Chu P, Fakih M. Response to PD-1 Blockade in Microsatellite Stable Metastatic Colorectal Cancer Harboring a POLE Mutation. *J Natl Compr Canc Netw.* 2017;15(2):142–147. doi: 10.6004/jnccn.2017.0016.
72. Wang C, Gong J, Tu TY, Lee PP, Fakih M. Immune profiling of microsatellite instability-high and polymerase ϵ (POLE)-mutated metastatic colorectal tumors identifies predictors of response to anti-PD-1 therapy. *J Gastrointest Oncol.* 2018;9(3):404–415. doi: 10.21037/jgo.2018.01.09.
73. Imyanитov EN, Iyevleva AG, Levchenko EV. Molecular testing and targeted therapy for non-small cell lung cancer: Current status and perspectives. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2021;157:103194. doi: 10.1016/j.critrevonc.2020.103194.
74. Preobrazhenskaya EV, Iyevleva AG, Suleymanova AM, Tiurin VI, Mitiushkina NV, Bizin IV, Ivanstov AO, Gorustovich OA, Shelekhova KV, Kachanov DY, Varfolomeeva SR, Roschin VY, Kazakova AN, Litvinov DV, Shamanskaya TV, Savelov NA, Suspitsin EN, Imyanитov EN. Gene rearrangements in consecutive series of pediatric inflammatory myofibroblastic tumors. *Pediatr Blood Cancer.* 2020;67(5):e28220. doi: 10.1002/pbc.28220.
75. Pietrantonio F, Di Nicolantonio F, Schrock AB, Lee J, Tejpar S, Sartore-Bianchi A, Hechtman JF, Christiansen J, Novara L, Tebbutt N, Cucà G, Antoniotti C, Kim ST, Murphy D, Berenato R, Morano F, Sun J, Min B, Stephens PJ, Chen M, Lazzari L, Miller VA, Shoemaker R, Amatu A, Milione M, Ross JS, Siena S, Bardelli A, Ali SM, Falcone A, de Braud F, Cremolini C. ALK, ROS1, and NTRK rearrangements in metastatic colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2017;109(12). doi: 10.1093/jnci/djx089.
76. Cocco E, Benhamida J, Middha S, Zehir A, Mullaney K, Shia J, Yaeger R, Zhang L, Wong D, Villafania L, Nafa K, Scaltriti M, Drilon A, Saltz L, Schram AM, Stadler ZK, Hyman DM, Benayed R, Ladanyi M, Hechtman JF. Colorectal carcinomas containing hypermethylated MLH1 promoter and wild-type BRAF/KRAS are enriched for targetable kinase fusions. *Cancer Res.* 2019;79(6):1047–1053. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-18-3126.
77. Sato K, Kawazu M, Yamamoto Y, Ueno T, Kojima S, Nagae G, Abe H, Soda M, Oga T, Kohsaka S, Sai E, Yamashita Y, Inuma H, Fukayama M, Aburatani H, Watanabe T, Mano H. Fusion kinases identified by genomic analyses of sporadic microsatellite instability-high colorectal cancers. *Clin Cancer Res.* 2019;25(1):378–389. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-1574.
78. Pagani F, Randon G, Guarini V, Raimondi A, Prisciandaro M, Lobefaro R, Di Bartolomeo M, Sozzi G, de Braud F, Gasparini P, Pietrantonio F. The landscape of actionable gene fusions in colorectal cancer. *Int J Mol Sci.* 2019;20(21):5319. doi: 10.3390/ijms20215319.
79. Singh H, Li YY, Spurr LF, Shinagare AB, Abhyankar R, Reilly E, Brais LK, Nag A, Ducar MD, Thorner AR, Shapiro GI, Keller RB, Siletti C, Clark JW, Farago AF, Lin JJ, Demetri GD, Gujrathi R, Kulke MH, MacConaill LE, Ligon AH, Sicinska E, Meyerson ML, Meyerhardt JA, Cherniack AD, Wolpin BM, Ng K, Giannakis M, Hornick JL, Cleary JM. Molecular characterization and therapeutic targeting of colorectal cancers harboring receptor tyrosine kinase fusions. *Clin Cancer Res.* 2021;27(6):1695–1705. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-20-4073.
80. Snyder C, Hampel H. Hereditary Colorectal Cancer Syndromes. *Semin Oncol Nurs.* 2019;35(1):58–78. doi: 10.1016/j.soncn.2018.12.011.
81. Valle L, de Voer RM, Goldberg Y, Sjursen W, Försti A, Ruiz-Ponte C, Caldés T, Garré P, Olsen MF, Nordling M, Castellvi-Bel S, Hemminki K. Update on genetic predisposition to colorectal cancer and polyposis. *Mol Aspects Med.* 2019;69:10–26. doi: 10.1016/j.mam.2019.03.001.
82. Valle L, Vilar E, Tavtigian SV, Stoffel EM. Genetic predisposition to colorectal cancer: syndromes, genes, classification of genetic variants and implications for precision medicine. *J Pathol.* 2019;247(5):574–588. doi: 10.1002/path.5229.
83. Clark SK. Management of genetically determined colorectal cancer. *Surgeon.* 2019;17(3):165–171. doi: 10.1016/j.surge.2019.03.003.
84. Terradas M, Capellá G, Valle L. Dominantly inherited hereditary nonpolyposis colorectal cancer not caused by MMR genes. *J Clin Med.* 2020;9(6):1954. doi: 10.3390/jcm9061954.
85. Soares BL, Brant AC, Gomes R, Pastor T, Schneider NB, Ribeiro-Dos-Santos Á, de Assumpção PP, Achatz MIW, Ashton-Prola P, Moreira MAM. Screening for germline mutations in mismatch repair genes in patients with Lynch syndrome by next generation sequencing. *Fam Cancer.* 2018;17(3):387–394. doi: 10.1007/s10689-017-0043-5.
86. Yanus GA, Akhapkina TA, Iyevleva AG, Kornilov AV, Suspitsin EN, Kuligina ES, Ivantsov AO, Aleksakhina SN, Sokolova TN, Sokolenko AP, Togo AV, Imyanитov EN. The spectrum of Lynch syndrome-associated germ-line mutations in Russia. *Eur J Med Genet.* 2020;63(3):103753. doi: 10.1016/j.ejmg.2019.103753.
87. Cohen JD, Li L, Wang Y, Thoburn C, Afsari B, Danilova L, Douville C, Javed AA, Wong F, Mattox A, Hruban RH, Wolfgang CL, Goggins MG, Dal Molin M, Wang TL, Roden R, Klein AP, Ptak J, Dobblyn L, Schaefer J, Silliman N, Popoli M, Vogelstein JT, Browne JD, Schoen RE, Brand RE, Tie J, Gibbs P, Wong HL, Mansfield AS, Jen J, Hanash SM, Falconi M, Allen PJ, Zhou S, Bettingowda C, Diaz LA Jr, Tomasetti C, Kinzler KW, Vogelstein B, Lennon AM, Papadopoulos N. Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test. *Science.* 2018;359(6378):926–930. doi: 10.1126/science.aar3247.
88. Lennon AM, Buchanan AH, Kinde I, Warren A, Honushefsky A, Cohain AT, Ledbetter DH, Sanfilippo F, Sheridan K, Rosica D, Adonizio CS, Hwang HJ, Lahouel K, Cohen JD, Douville C, Patel AA, Hagmann LN, Rolston DD, Malani N, Zhou S, Bettingowda C, Diehl DL, Urban B, Still CD, Kann L, Woods JI, Salvati ZM, Vadakara J, Leeming R, Bhattacharya P, Walter C, Parker A, Lengauer C, Klein A, Tomasetti C, Fishman EK, Hruban RH, Kinzler KW, Vogelstein B, Papadopoulos N. Feasibility of blood testing combined with PET-CT to screen for cancer and guide intervention. *Science.* 2020;369(6499):eabb9601. doi: 10.1126/science.abb9601.
89. Reinert T, Henriksen TV, Christensen E, Sharma S, Salari R, Sethi H, Knudsen M, Nordentoft I, Wu HT, Tin AS, Heilskov Rasmussen M, Vang S, Shchegrova S, Frydendahl Boll Johansen A, Srinivasan R, Assaf Z, Balcioglu M, Olson A, Dashner S, Hafez D, Navarro S, Goel S, Rabinowitz M, Billings P, Sigurjonsson S, Dyrskjøt L, Swenerton R, Aleshin A, Laurberg S, Husted Madsen A, Kannerup AS, Stribolt K, Palmelund Krag S, Iversen LH, Gotschalck Sunesen K, Lin CJ, Zimmermann BG, Lindbjerg Andersen C. Analysis of plasma cell-free DNA by ultra-deep sequencing in patients with stages I to III colorectal cancer. *JAMA Oncol.* 2019;5(8):1124–1131. doi: 10.1001/jamaoncol.2019.0528.
90. Tarazona N, Gimeno-Valiente F, Gambardella V, Zuñiga S, Rentero-Garrido P, Huerta M, Roselló S, Martínez-Ciarpaglini C, Carbonell-Asins JA, Carrasco F, Ferrer-Martínez A, Bruixola G, Fleitas T, Martín J, Tébar-Martínez R, Moro D, Castillo J, Espi A, Roda D, Cervantes A. Targeted next-generation sequencing of circulating-tumor DNA for tracking minimal residual disease in localized colon cancer. *Ann Oncol.* 2019;30(11):1804–1812. doi: 10.1093/annonc/mdz390.
91. Tie J, Cohen JD, Wang Y, Christie M, Simons K, Lee M, Wong R, Kosmider S, Ananda S, Mc Kendrick J, Lee B, Cho JH, Faragher I, Jones IT, Ptak J, Schaeffer MJ, Silliman N, Dobblyn L, Li L, Tomasetti C, Papadopoulos N, Kinzler KW, Vogelstein B, Gibbs P. Circulating tumor DNA analyses as markers of recurrence risk and benefit of adjuvant therapy for stage III colon



- cancer. *JAMA Oncol.* 2019;5(12):1710–1717. doi: 10.1001/jamaoncol.2019.3616.
92. Wang Y, Li L, Cohen JD, Kinde I, Ptak J, Popoli M, Schaefer J, Silliman N, Dobbyn L, Tie J, Gibbs P, Tomasetti C, Kinzler KW, Papadopoulos N, Vogelstein B, Olsson L. Prognostic Potential of Circulating Tumor DNA measurement in postoperative surveillance of non-metastatic colorectal cancer. *JAMA Oncol.* 2019;5(8):1118–1123. doi: 10.1001/jamaoncol.2019.0512.
93. Max Ma X, Bendell JC, Hurwitz HI, Ju C, Lee JJ, Lovejoy A, Mancao C, Nicholas A, Price R, Sommer N, Tikoo N, Yao L, Yang SJ, Palma JF. Disease monitoring using post-induction circulating tumor DNA analysis following first-line therapy in patients with metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res.* 2020;26(15):4010–4017. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-1209.
94. Siravegna G, Mussolin B, Buscarino M, Corti G, Cassingena A, Crisafulli G, Ponzetti A, Cremonini C, Amatu A, Lauricella C, Lamba S, Hobor S, Avallone A, Valtorta E, Rospo G, Medico E, Motta V, Antoniotti C, Tatangelo F, Bellosillo B, Veronese S, Budillon A, Montagut C, Racca P, Marsoni S, Falcone A, Corcoran RB, Di Nicolantonio F, Loupakis F, Siena S, Sartore-Bianchi A, Bardelli A. Clonal evolution and resistance to EGFR blockade in the blood of colorectal cancer patients. *Nat Med.* 2015;21(7):795–801. doi: 10.1038/nm.3870.
95. Parseghian CM, Loree JM, Morris VK, Liu X, Clifton KK, Napolitano S, Henry JT, Pereira AA, Vilar E, Johnson B, Kee B, Raghav K, Dasari A, Wu J, Garg N, Raymond VM, Banks KC, Tala-saz AA, Lanman RB, Strickler JH, Hong DS, Corcoran RB, Overman MJ, Kopetz S. Anti-EGFR-resistant clones decay exponentially after progression: implications for anti-EGFR re-challenge. *Ann Oncol.* 2019;30(2):243–249. doi: 10.1093/annonc/mdy509.
96. Dasari A, Morris VK, Allegra CJ, Atreya C, Benson AB 3rd, Boland P, Chung K, Copur MS, Corcoran RB, Deming DA, Dwyer A, Diehn M, Eng C, George TJ, Gollub MJ, Goodwin RA, Hamilton SR, Hechtman JF, Hochster H, Hong TS, Innocenti F, Iqbal A, Jacobs SA, Kennecke HF, Lee JJ, Lieu CH, Lenz HJ, Lindwasser OW, Montagut C, Odisio B, Ou FS, Porter L, Raghav K, Schrag D, Scott AJ, Shi Q, Strickler JH, Venook A, Yaeger R, Yothers G, You YN, Zell JA, Kopetz S. ctDNA applications and integration in colorectal cancer: an NCI Colon and Rectal-Anal Task Forces whitepaper. *Nat Rev Clin Oncol.* 2020;17(12):757–770. doi: 10.1038/s41571-020-0392-0.

Molecular genetic testing in colon cancer: clinical aspects

A.S. Martianov¹ • E.Sh. Kuligina¹ • A.A. Romanko^{1,2} • E.N. Imyanitov^{1,2}

Molecular genetic diagnostics is an essential element to plan for management of colorectal cancer (CRC) patients. The choice of systemic treatment for CRC is impossible without molecular testing of the tumor. For instance, the assessment of the *KRAS* and *NRAS* genes is mandatory for consideration of anti-EGFR agents. Tumors with *BRAF* V600E mutation are characterized by aggressive behavior, the necessity of intensive cytostatic regimens, as well as by sensitivity to combination therapy with *BRAF* and EGFR inhibitors. Inactivation of the DNA mismatch repair, the *MUTYH* gene or DNA polymerase epsilon (*POLE*) leads to an excessive tumor mutational burden; these CRC types are highly immunogenic and therefore respond to immune checkpoint inhibitors. Some colorectal carcinomas are characterized by overexpression of the *HER2* oncogene, which make them sensitive to corresponding target therapies. There are CRCs with clinical signs of hereditary predisposition, which require germline genetic testing. Nowadays the molecular diagnosis of CRC is being seriously

modified due to worldwide implementation of the next-generation sequencing (NGS) and hypersensitive variants of polymerase chain reaction, for example, droplet digital polymerase chain reaction (ddPCR). Non-invasive liquid biopsy is an example of another highly useful innovation that has growing importance for CRC screening, control of surgical intervention efficacy and monitoring of the disease course.

Key words: colon cancer, colorectal cancer, target therapy, *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *HER2*, microsatellite instability, *MUTYH*, hereditary cancer syndrome

For citation: Martianov AS, Kuligina ESh, Romanko AA, Imyanitov EN. Molecular genetic testing in colon cancer: clinical aspects. *Almanac of Clinical Medicine.* 2022;50(1):1–12. doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-002.

Received 27 November 2021; revised 10 January 2022; accepted 31 January 2022; published online 17 February 2022

Aleksandr S. Martianov – Postgraduate Student, Laboratory of Molecular Oncology¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7690-8328>.
E-mail: aleksandr.s.martianov@gmail.com

Ekaterina Sh. Kuligina – PhD (in Biol.), Senior Research Fellow, Laboratory of Molecular Oncology¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2396-6540>
✉ 68 Leningradsкая ul., Pesochnyy poselok, Saint Petersburg, 197758, Russian Federation.
Tel.: +7 (812) 439 95 28.
E-mail: kate.kuligina@gmail.com

Alexandr A. Romanko – Clinical Research Assistant, Laboratory of Molecular Oncology¹; Postgraduate Student, Medical Technologists, Chair of General and Molecular Medical Genetics²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6549-8378>.
E-mail: romanko.aleksandr.a@gmail.com

Evgeny N. Imyanitov – MD, PhD, Professor, Corr. Member of Russ. Acad. Sci., Head of Science Department of Tumor Growth Biology¹; Head of Chair of General and Molecular Medical Genetics²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4529-7891>.
E-mail: evgeny@imyanitov.spb.ru

Funding

The work was financed from the Russian Foundation for Basic Research (RFBR) grant No. 20-315-90097.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests.

Authors' contributions

All the authors authors have equally contributed to the manuscript. All the authors have read and approved the final version of the manuscript before submission, agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work have been appropriately investigated and resolved.

¹N.N. Petrov National Medicine Research Center of Oncology; 68 Leningradsкая ul., Pesochnyy poselok, Saint Petersburg, 197758, Russian Federation

²St. Petersburg State Pediatric Medical University; 2 Litovskaya ul., Saint Petersburg, 194100, Russian Federation



Обзор

Цитотоксическая активность макрофагов и ее роль в патогенезе опухолей

Ковалева О.В.¹ • Подлесная П.А.¹ • Грачев А.Н.¹

Ковалева Ольга Владимировна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории регуляции клеточных и вирусных онкогенов Научно-исследовательского института канцерогенеза¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6132-9924>
✉ 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, Российская Федерация.
Тел.: +7 (903) 764 42 18.
E-mail: ovkovaeva@gmail.com

Подлесная Полина Алексеевна – лаборант-исследователь лаборатории биологии стромальных клеток опухолей Научно-исследовательского института канцерогенеза¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2312-5546>.
E-mail: polina.pod@yandex.ru

Грачев Алексей Николаевич – д-р биол. наук, заведующий лабораторией биологии стромальных клеток опухолей Научно-исследовательского института канцерогенеза¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2137-1866>.
E-mail: alexei.gratchev@gmail.com

Центральную роль в уничтожении опухолевых клеток играют макрофаги, натуральные киллеры и Т-клетки. Цель данного обзора – определить современные взгляды на механизмы взаимодействия опухолевых клеток и опухолевой стромы, приводящие как к формированию популяции макрофагов, неспособных к эффективной противоопухолевой активности, так и к отбору опухолевых клеток, устойчивых к цитотоксичности макрофагов.

Макрофаги – весьма разносторонние клетки, способные не только стимулировать воспалительную реакцию (макрофаги 1-го типа – M1), но и подавлять ее (макрофаги 2-го типа – M2). Макрофаги, ассоциированные с опухолью (MAO), считаются основным регулятором противоопухолевого иммунного ответа и, как правило, обладают противовоспалительными свойствами, то есть относятся к типу M2. Опухолевые клетки способны влиять на макрофаги, «перепрограммируя» их на выполнение иммуносупрессорной функции. MAO также стимулируют ангиогенез и перестройку внеклеточного матрикса, необходимую для метастазирования.

В последнее время появляется все больше работ, в которых описаны MAO смешанного фенотипа, обладающие характеристиками как M2, так и M1. Для M1 характерна продукция провоспалительных цитокинов, активных форм кислорода, бактерицидная и цитотоксическая активность. M1 могут уничтожать опухолевые клетки

прямым или косвенным способом, путем привлечения других клеток. Несмотря на то что механизмы прямой цитотоксической активности достаточно вариативны, их эффективность в значительной степени зависит от свойств конкретной опухоли. Цитотоксическая активность макрофагов является мощным фактором, сдерживающим инициацию и прогрессию опухоли, однако в ряде случаев ее недостаточно для контроля опухолевого процесса. Активация цитотоксической активности MAO лежит в основе одной из стратегий использования макрофагов при лечении онкологических заболеваний. Понимание механизмов цитотоксической активности макрофагов и особенностей ее проявления в условиях опухолевого окружения критически важно для повышения эффективности существующих методов лечения онкологических заболеваний и разработки перспективных методов иммунотерапии опухолей.

Ключевые слова: макрофаг, иммунитет, цитокин, опухоль

Для цитирования: Ковалева ОВ, Подлесная ПА, Грачев АН. Цитотоксическая активность макрофагов и ее роль в патогенезе опухолей. Альманах клинической медицины. 2022;50(1):13–20. doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-008.

Поступила 21.03.2022; доработана 28.03.2022; принята к публикации 04.04.2022; опубликована онлайн 05.04.2022

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, Российская Федерация

Современные методы лечения злокачественных опухолей часто включают различные подходы к стимуляции противоопухолевой активности иммунной системы [1]. Так, лекарственные препараты на основе моноклональных антител активируют антителозависимый клеточный фагоцитоз. Использование стимуляторов классической активации макрофагов, в том числе бактериальных продуктов, основано на

антителонезависимой цитотоксичности макрофагов. При этом, несмотря на успехи данных методов лечения, остается неясным, почему в большом количестве случаев развивается устойчивость опухолей к терапии. Это может быть вызвано развитием устойчивости опухолевых клеток к противоопухолевой активности макрофагов, а также формированием толерантного фенотипа макрофагов, не обладающих достаточной цитотоксичностью.



В этой связи целью нашего обзора стало изучение механизмов взаимодействия опухолевых клеток и опухолевой стромы, приводящих как к формированию популяции макрофагов, неспособных к эффективной противоопухолевой активности, так и к отбору опухолевых клеток, устойчивых к цитотоксичности макрофагов. Поиск источников проводился в базах данных и поисковых системах PubMed, Medline, Scopus, Web of Science, eLibrary.ru, Google Scholar, также были использованы материалы сайта Всемирной организации здравоохранения. В обзор преимущественно включались статьи, написанные за последние 20 лет.

Микроокружение опухоли

Опухолевая строма является неотъемлемой частью опухоли, в значительной степени влияющей на ее характеристики. Опухолевая строма представлена Т- и В-клетками, макрофагами и дендритными клетками, супрессорными миелоидными клетками, естественными киллерами (NK-клетки), а также фолликулярными дендритными клетками и фибробластами. В опухоли эти клетки выполняют различные функции. Дендритные клетки, CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоциты, NK-клетки относятся к цитотоксическим и подавляют прогрессию опухоли. Напротив, регуляторные Т-клетки (Treg) способствуют опухолевой прогрессии. Супрессорные миелоидные клетки также увеличивают злокачественность опухоли путем подавления активности NK-клеток и цитотоксических Т-клеток, активации Treg-клеток, а также поддержания ангиогенеза и метастазирования. Макрофаги, приобретающие противовоспалительный фенотип под воздействием цитокинов, производимых опухолевыми и стромальными клетками, выполняют регуляторную функцию, а именно обеспечивают иммуносупрессию, стимулируют пролиферацию опухолевых клеток, стимулируют ангиогенез и метастазирование [2–4].

Термин «макрофаги» впервые был употреблен И.И. Мечниковым в 1882 г. при описании фагоцитоза. Макрофаги занимают центральное место в иммунном ответе, осуществляя первичную реакцию на патоген, а также принимают участие в формировании усиленного антигенспецифического ответа, активируя Т-клетки путем процессинга и презентации им антигена, а затем участвуют в эффекторных механизмах, вызывая воспаление, уничтожая микроорганизмы и опухолевые клетки.

Последние исследования показали, что макрофаги представляют собой гетерогенную

популяцию клеток, регулирующих гомеостатические и патологические процессы [5–7]. Фенотипически функциональная гетерогенность макрофагов определяется как тканевым микроокружением, так и природой активационных стимулов. Соответственно Th1/Th2 дихотомии иммунного ответа выделяют два типа активации макрофагов: M1 – провоспалительную, или классическую, и M2 – противовоспалительную, или альтернативную. Взаимодействие макрофагов с агентами воспаления, такими как патоген-ассоциированные микробные структуры или провоспалительные цитокины (например, IFN γ), приводит к провоспалительной (классической) активации этих клеток (M1), которая сопровождается производством провоспалительных цитокинов, реактивных форм кислорода, окиси азота и др. В совокупности такая активация макрофагов запускает воспалительный процесс и иммунный ответ Th1-типа. Альтернативно активированные макрофаги (M2), напротив, выступают супрессорами иммунного ответа. Поляризацию макрофагов в тип M2 стимулируют интерлейкины 4 и 13 и др. [8].

Макрофаги, ассоциированные с опухолью

Из циркулирующих моноцитов, привлеченных в зону роста злокачественного новообразования, образуются макрофаги, ассоциированные с опухолью (MAO). Большинство моноцитов, которые превращаются в MAO, рекрутируются при помощи хемокинов CCL2 (MCP-1) и CCL5 (RANTES) [9, 10]. Биологический эффект CCL2 для опухолевого роста имеет дозозависимый характер: низкий уровень его экспрессии опухолевыми клетками ассоциируется с опухолевой прогрессией, а высокий – с регрессией, вероятно, обусловленной миграцией в зону роста опухоли макрофагов M1-фенотипа [11]. CCL5 производится Т-клетками, а также некоторыми опухолевыми клетками. Этот хемокин не только стимулирует миграцию моноцитов, но и активирует продукцию ими ряда аттрактантов клеток миелоидного происхождения, таких как CCL2, CCL3 (MCP-1 α), CCL4 (MCP-1 β) и CXCL8 (IL8) [12, 13].

Функции макрофагов в зоне роста опухоли чрезвычайно разнообразны. Первоочередной и единственной функцией MAO длительное время считалось непосредственное цитотоксическое действие по отношению к опухолевым клеткам, а также фагоцитоз апоптотических клеток и клеточного дэбриса. Сегодня понятие о функциях MAO значительно расширилось. Известно, что рекрутированные моноциты в зоне роста опухоли способны



формировать две функционально различные популяции: M1 (участвуют в активации противоопухолевого иммунитета) и M2 (способствуют прогрессии опухоли) [14–16]. При этом доминирующей популяцией являются M2, обеспечивающие локальное подавление противоопухолевого иммунитета. Повышенное количество MAO в строме опухоли практически всегда коррелирует с плохим прогнозом заболевания [6, 17–19].

Формирование и состав микроокружения контролируют цитокины, секретируемые опухолевыми клетками. Помимо упомянутых ранее CCL2 и CCL5 важную роль в формировании популяции MAO играет VEGF. Концентрация VEGF в зоне роста злокачественного новообразования коррелирует с количеством MAO в строме. Этот цитокин также стимулирует миграцию циркулирующих моноцитов в зону опухолевого роста и опосредует возврат миелоидных клеток в лимфатические узлы в местах опухолевой неоваскуляризации, вызывая продукцию CXCL12, хемокина, способствующего пролиферации и миграции опухолевых клеток [20]. В местах опухолевой неоваскуляризации эндотелиальные клетки сосудов продуцируют изоформы гормона эндотелина: ET-1, ET-2 и ET-3. Данные белки также обладают хемоаттрактантной активностью в отношении моноцитов и нейтрофилов. ET-2 опосредует миграцию макрофагов к опухоли, локализацию их в зоне гипоксии и активацию в этих клетках белков, способствующих опухолевой прогрессии, например, матриксных металлопротеиназ (MMP)-2 и -9 [21].

Факторы, производимые опухолевыми клетками, не только регулируют размер популяции MAO, но и определяют их иммуносупрессорный фенотип. Толерогенными и иммуносупрессивными свойствами обладают такие цитокины и ростовые факторы, как IL-10, PGE₂, TGF-β1, IL-4, IL-6. Они способствуют поляризации макрофагов в M2-фенотип, который характеризуется пониженной продукцией TNF-α и IL-12. Для M2 типичны низкий уровень цитотоксической активности, пониженная экспрессия MHC класса II и CD80, необходимых для презентации антигенов, повышенная фагоцитарная и эндотоксическая активность [22–25]. Такие макрофаги приобретают способность к усиленному синтезу биологически активных медиаторов, которые способствуют опухолевой прогрессии. При взаимодействии с M2 в опухолевых клетках усиливается экспрессия большого количества генов, среди которых гены, вовлеченные в процессы ангиогенеза и лимфангиогенеза, адгезии

и протеолиза, клеточного роста и регуляции клеточного цикла (IL-6, IL-7R, IL-8, ICAM-1, MMP-1, MMP-9, VEGF-A, VEGF-C и др.), а также некоторые гены, функции которых в настоящее время неизвестны [26, 27]. M2 способствуют формированию опухолевой устойчивости путем продукции MMP-7, которая расщепляет Fas-лиганды на соседних опухолевых клетках, делая их таким образом не только резистентными к химиотерапевтическим агентам, например, доксорубину, но также нечувствительными к цитотоксическому действию естественных киллеров и T-лимфоцитов [26, 28, 29].

Помимо подавления противоопухолевого иммунитета MAO отводится ключевая роль в стимуляции ангиогенеза в опухоли. В литературе существует определение MAO (M2) как макрофагов ангиогенного фенотипа благодаря их способности секретировать молекулы, способствующие ангиогенезу, такие как VEGF, FGF, эндотелин, IL-17, IL-23 или TGF-β [21]. MAO производят различные проангиогенные и лимфангиогенные ростовые факторы, цитокины и протеазы (таблица) [30–33].

Несмотря на доминирующий M2-фенотип, популяция MAO также содержит некоторое количество макрофагов фенотипа M1 или смешанного фенотипа M1/M2. Считается, что этот тип макрофагов обладает цитотоксической и противоопухолевой активностью [24]. Однако их количество, как правило, недостаточно для того, чтобы эффективно ограничивать опухолевый рост.

Цитотоксическая активность макрофагов

Макрофаги способны спонтанно уничтожать опухолевые клетки, однако их цитотоксичность может быть значительно увеличена посредством соответствующей активации в процессе дифференцировки из моноцитов. Основными активаторами цитотоксической активности макрофагов традиционно считаются бактериальный липополисахарид (LPS), мурамиловый дипептид (MDP) и INFγ. Активаторами также могут выступать синтетические аналоги 2-мезофосфотидилхолина, микоплазма, GM-CSF, M-CSF, глюкозамингликаны, фибронектины. Элиминация неопластических клеток осуществляется посредством цитотоксического действия макрофагов, в результате которого в опухолевых клетках запускается процесс апоптоза или некроза [34].

Механизм цитотоксичности макрофагов в полной мере не изучен. Считается, что этот процесс может как зависеть от непосредственного контакта с опухолевыми клетками, так



Ангиогенные медиаторы, секретируемые опухоль-ассоциированными макрофагами

| Фактор | Участие в процессе ангиогенеза |
|---------------|---|
| VEGF | Усиливает проницаемость эндотелия, стимулирует пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток и тормозит их апоптоз |
| bFGF | Индукцирует экспрессию VEGF и его рецепторов, действует синергично с VEGF |
| Ангиопоэтин-2 | В присутствии VEGF дестабилизирует стенку существующего кровеносного сосуда, делая его более чувствительным к индукции VEGF-опосредованного ветвления |
| Гепараназа | Способствует ангиогенезу, как непосредственно (стимулируя инвазию эндотелиальных клеток), так и опосредованно, вызывая высвобождение bFGF из комплекса с гепарансульфатом |
| IL-8 | Индукцирует пролиферацию эндотелиальных клеток |
| MMPs | Принимают участие в деградации внеклеточного матрикса и базальной мембраны существующего сосудистого ложа, способствуют высвобождению проангиогенных медиаторов, ассоциированных с внеклеточным матриксом |
| IL-1 β | Усиливает образование VEGF, HGF, TNF- α |
| TNF- α | Усиливает экспрессию VEGF, bFGF, IL-8 и их рецепторов |
| M-CSF | Усиливает образование VEGF, IL-8, хемоаттрактантов моноцитов |
| MCP-1 | Усиливает образование VEGF, IL-8, TNF- α , хемоаттрактантов моноцитов |
| MIF | Усиливает образование TNF- α , IL-1 β , CXC-хемокинов |
| PAF | Усиливает образование TNF- α , IL-1 β , VEGF, bFGF |
| TGF- β | Усиливает экспрессию VEGF, bFGF, IL-8, TNF- α , IL-1 β , хемоаттрактантов моноцитов |
| HB-EGF | Усиливает образование VEGF и MMPs |
| DGF | Стимулирует рекрутинг и миграцию макрофагов |

и проходить посредством продуцируемых макрофагами хемокинов. Контакт-зависимый механизм, в свою очередь, подразделяется на антителозависимый (ADCC) и антителонезависимый.

Механизм ADCC признан ключевым механизмом уничтожения опухолевых клеток. Цитотоксическая активность макрофагов в этом случае зависит от В-клеток, которые производят антитела, связывающиеся с опухолевыми клетками. Макрофаги распознают трансформированные клетки, покрытые антителами, и связываются с ними через Fc-рецептор, расположенный на мембране макрофагов. Антителозависимый механизм может быть усилен цитокинами IL-2, IL-15, IL-18, IL-21 [35, 36]. Показано, что IL-15 значительно повышал терапевтический эффект препаратов моноклональных антител (анти-CD20 и анти-CD52) в случаях лимфомы и Т-клеточного лейкоза [37]. Данный эффект был обусловлен усилением ADCC в контексте макрофагов и NK-клеток.

Антителонезависимый механизм практически не описан в научной литературе. Известно, что данный процесс требует праймирования цитокинами, такими как INF γ , и/или бактериальными продуктами – липополисахаридом, мурамиловым дипептидом и форболовым эфиром [38]. Для некоторых опухолей данный процесс может протекать без опсонизации. Так, установлено, что лимфоидные новообразования и нейробластомы чувствительны к цитотоксической активности макрофагов, полученных из моноцитов посредством макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF) [39].

В ответ на стимуляцию липополисахаридом макрофаги производят набор воспалительных цитокинов и медиаторов, таких как IL-1, -6, -8, -10, TNF- α , INF γ , простагландины, лейкотриены, факторы активации тромбоцитов и др. Это связано с тем, что липополисахарид активирует транскрипционный фактор NF- κ B, в результате чего запускается экспрессия ряда генов иммунного ответа. Полагают также, что это связано с наличием специфических факторов транскрипции, например, PU.1 и C/EBP, которые располагаются в области энхансеров перед генами цитокинов и связываются со стимулирующими факторами транскрипции, запуская экспрессию генов [40].

Основным медиатором формирования макрофагальной цитотоксичности считается интерферон гамма (INF γ). Его связывание с транскрипционным фактором STAT1 запускает транскрипцию более чем в двухсот генах (так называемые гены ISG – Interferon-Stimulated Genes). В результате в разы повышается экспрессия генов воспалительных медиаторов, продуцируемых макрофагами [41]. Среди них в основном гены, связанные с воспалением, такие как GM-CSF, IL-12p40, TNF- α и IL-6.

Активация STAT1 также ингибирует секрецию IL-10, который снижает цитотоксическую активность макрофагов путем подавления IL-1 и TNF- α .

MDP способен восстанавливать противоопухольную активность макрофагов в условиях подавления иммунного ответа прогрессирующими опухолями. MDP распознается цитоплазматическим рецептором NOD2. В результате их взаимодействия активируется провоспалительный фактор транскрипции NF- κ B, что ведет к запуску продукции таких провоспалительных цитокинов, как IL-1, IL-2, IL-6, IL-12, фактор некроза опухоли – TNF- α , GM-CSF, а также ряда хемокинов IL-8, MIP1, RANTES и эотоксина, белков острой фазы, молекул адгезии и индуцируемых



эффektorных ферментов (например, iNOS, COX-2) [42, 43].

Было показано, что MDP повышает секрецию оксида азота путем стимуляции образования индуцируемой NO-синтазы в макрофагах. Оксид азота – один из центральных цитотоксических факторов макрофагов. Индуцируемая NO-синтаза в несколько сотен раз повышает количество синтезируемого оксида азота по сравнению с результатом функционирования конститутивной NO-синтазы. Результатом реакции NO с супероксидным радикалом является пероксинитрит – мощный стимулятор апоптоза. Пероксинитрит ингибирует ферменты митохондрий, ДНК-полимеразы, характеризуется генотоксическим действием [44].

Форболовый эфир РМА (форбол-12-мири-стат-13-ацетат) индуцирует дифференциацию моноцитов в макрофаги. В лабораторных условиях РМА вызывает адгезию моноцитов на поверхности стекла путем активации киназ (протеинкиназы C, АМРК и Syk). Форболовый эфир стимулирует цитотоксичность макрофагов путем повышения экспрессии генов Toll-подобных рецепторов (TLR2, TLR3, TLR4, TLR7, TLR8, TLR9), ряда цитоплазматических хеликаз (RIG1, MDA5) и фактора транскрипции NF-κB. Под действием РМА в моноцитах возрастает продукция воспалительных цитокинов (большое количество IL-1β и TNF-α и небольшие количества IL-10). Наблюдалась также активация сигнального пути RhoA/ROCK в макрофагах, обработанных форболовым эфиром [45, 46].

Макрофаги в противоопухолевой терапии

Тот факт, что макрофаги играют важнейшую роль в опухолевой прогрессии и могут составлять до 50% массы опухоли, позволяет считать их перспективной мишенью для противоопухолевой терапии. В настоящее время активно исследуются три основные стратегии лечения онкологических заболеваний, направленные на MAO: ингибирование инфильтрации опухолей моноцитами/макрофагами, активация функций MAO, характерных для M1, и селективная элиминация MAO [47].

Учитывая, что MAO происходят в основном из циркулирующих моноцитов, ингибиторы миелоидных хемоаттрактантов представляют интерес для терапевтической практики. Так, использование ингибиторов CCL2 и CSF-1 способствует опухолевой регрессии и повышает эффективность системной терапии при раке яичников, предстательной железы и молочной железы [48–52].

Реполяризация MAO в провоспалительный M1-фенотип – наиболее динамично развива-

ющаяся стратегия. Отчасти это обусловлено синергетическим действием с иммунопрепаратами, представленными ингибиторами контрольных точек [53, 54]. В качестве агентов, способствующих возврату цитотоксического потенциала MAO, наибольший интерес представляют антитела к CD47, CD40, агонисты TLR, ингибиторы HDAC и PI3Kγ [55–57]. Anti-CD47 позволяют ингибировать защитный сигнал опухолевых клеток «не ешь меня», выраженный в гиперэкспрессии CD47 на поверхности злокачественных клеток. Данная стратегия показала эффективность в отношении опухолей различных локализаций. Терапевтический эффект антител против CD40 опосредован повышением экспрессии MHC на поверхности макрофагов и продукции провоспалительных цитокинов. Данные агенты показали высокую противоопухолевую активность в случаях рака поджелудочной железы, в особенности в комбинации с анти-PD-1 [58].

Уничтожение MAO, в основном, достигается путем применения антител к CSF-1R и токсических для макрофагов бисфосфонатов. Терапия с применением anti-CSF-1R способствует ингибированию рекрутирования моноцитов в опухолевую строму и элиминации существующих MAO. Применение данного терапевтического агента блокировало прогрессирование глиомы, рака шейки матки и молочной железы, лимфомы [59–61]. Бисфосфонаты, которые доставляются в очаг опухоли, как правило, в виде липосом, вызывают элиминацию макрофагов путем расщепления их мембран фосфолипазами [62]. На мышинной модели меланомы было показано, что липосомы, содержащие клодронат, ингибировали рост опухоли на 55% по сравнению с необработанным контролем, предотвращая при этом хемиааттракцию новых моноцитов из кровотока [63]. Большинство исследований с участием клодронатных липосом и других бисфосфонатов для истощения MAO было проведено на мышах. Несколько проведенных клинических испытаний имели противоречивые результаты, указывающие на необходимость оптимизации данной терапии [64].

Генетическая нестабильность опухолевых клеток способствует формированию фенотипа, устойчивого к цитотоксической активности макрофагов. Резистентность опухоли – центральная проблема противоопухолевой терапии. Понимание механизмов цитотоксической активности макрофагов позволит повысить эффективность существующих методов лечения



онкологических заболеваний и разработать перспективные методы иммунотерапии опухолей.

Заключение

Макрофаги, благодаря своей гетерогенности и функциональной пластичности, представляют

собой многообещающую мишень для противоопухолевой терапии. Однако недостаточное понимание механизмов активации цитотоксической активности макрофагов, а также фиксации их в состоянии фенотипа M1 ограничивает возможности разработки новых терапевтических подходов. ©

Дополнительная информация

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований в рамках научного проекта № 20-015-00479.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов

О.В. Ковалева – написание текста; П.А. Подлесная – сбор материала, анализ данных; А.Н. Грачев – концепция статьи, редактирование текста. Все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией, согласны нести ответственность за все аспекты работы и гарантируют, что ими надлежащим образом были рассмотрены и решены вопросы, связанные с точностью и добросовестностью всех частей работы.

Литература / References

1. Моисеенко ВМ, ред. Злокачественные опухоли (спецвыпуск журнала): Практические рекомендации Российского общества клинической онкологии. Лекарственное лечение злокачественных опухолей М.: Российское общество клинической онкологии; 2020. 656 с. [Moiseenko VM, editor. Malignant tumors (Supplement): practical guidance of Russian Society of Clinical Oncology. Drug therapy of malignant tumors. Moscow: Russian Society of Clinical Oncology; 2020. 656 p. Russian.]
2. Bingle L, Brown NJ, Lewis CE. The role of tumour-associated macrophages in tumour progression: implications for new anticancer therapies. *J Pathol.* 2002;196(3):254–265. doi: 10.1002/path.1027.
3. Brigati C, Noonan DM, Albini A, Benelli R. Tumors and inflammatory infiltrates: friends or foes? *Clin Exp Metastasis.* 2002;19(3):247–258. doi: 10.1023/a:1015587423262.
4. Leek RD, Harris AL. Tumor-associated macrophages in breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2002;7(2):177–189. doi: 10.1023/a:1020304003704.
5. Gratchev A. TGF- β signalling in tumour associated macrophages. *Immunobiology.* 2017;222(1):75–81. doi: 10.1016/j.imbio.2015.11.016.
6. Kovaleva OV, SamoiloVA DV, Shitova MS, Gratchev A. Tumor Associated Macrophages in Kidney Cancer. *Anal Cell Pathol (Amst).* 2016;2016:9307549. doi: 10.1155/2016/9307549.
7. Mantovani A, Locati M. Tumor-associated macrophages as a paradigm of macrophage plasticity, diversity, and polarization: lessons and open questions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013;33(7):1478–1483. doi: 10.1161/ATVBAHA.113.300168.
8. Mills CD, Kincaid K, Alt JM, Heilman MJ, Hill AM. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm. *J Immunol.* 2000;164(12):6166–6173. doi: 10.4049/jimmunol.164.12.6166.
9. Navratilova Z. Polymorphisms in CCL2&CCL5 chemokines/chemokine receptors genes and their association with diseases. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2006;150(2):191–204. doi: 10.5507/bp.2006.028.
10. Ben-Baruch A. The multifaceted roles of chemokines in malignancy. *Cancer Metastasis Rev.* 2006;25(3):357–371. doi: 10.1007/s10555-006-9003-5.
11. Nesbit M, Schaidler H, Miller TH, Herlyn M. Low-level monocyte chemoattractant protein-1 stimulation of monocytes leads to tumor formation in nontumorigenic melanoma cells. *J Immunol.* 2001;166(11):6483–6490. doi: 10.4049/jimmunol.166.11.6483.
12. Raman D, Baugher PJ, Thu YM, Richmond A. Role of chemokines in tumor growth. *Cancer Lett.* 2007;256(2):137–165. doi: 10.1016/j.canlet.2007.05.013.
13. Ali S, Lazennec G. Chemokines: novel targets for breast cancer metastasis. *Cancer Metastasis Rev.* 2007;26(3–4):401–420. doi: 10.1007/s10555-007-9073-z.
14. Espey MG. Tumor macrophage redox and effector mechanisms associated with hypoxia. *Free Radic Biol Med.* 2006;41(11):1621–1628. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2006.08.026.
15. Knowles HJ, Harris AL. Macrophages and the hypoxic tumour microenvironment. *Front Biosci.* 2007;12:4298–4314. doi: 10.2741/2389.
16. Porta C, Subhra Kumar B, Larghi P, Rubino L, Mancino A, Sica A. Tumor promotion by tumor-associated macrophages. *Adv Exp Med Biol.* 2007;604:67–86. doi: 10.1007/978-0-387-69116-9_5.
17. Kovaleva OV, Rashidova MA, SamoiloVA DV, Podlesnaya PA, Mochalnikova VV, Gratchev A. Immunosuppressive Phenotype of Esophagus Tumors Stroma. *Anal Cell Pathol (Amst).* 2020;2020:5424780. doi: 10.1155/2020/5424780.
18. Zhang Y, Cheng S, Zhang M, Zhen L, Pang D, Zhang Q, Li Z. High-infiltration of tumor-associated macrophages predicts unfavorable clinical outcome for node-negative breast cancer. *PLoS One.* 2013;8(9):e76147. doi: 10.1371/journal.pone.0076147.
19. Yang L, Wang F, Wang L, Huang L, Wang J, Zhang B, Zhang Y. CD163⁺ tumor-associated macrophage is a prognostic biomarker and is associated with therapeutic effect on malignant pleural effusion of lung cancer patients. *Oncotarget.* 2015;6(12):10592–10603. doi: 10.18632/oncotarget.3547.
20. Jiang YP, Wu XH, Xing HY, Du XY. Role of CXCL12 in metastasis of human ovarian cancer. *Chin Med J (Engl).* 2007;120(14):1251–1255.
21. Lamagna C, Aurrand-Lions M, Imhof BA. Dual role of macrophages in tumor growth and angiogenesis. *J Leukoc Biol.* 2006;80(4):705–713. doi: 10.1189/jlb.1105656.
22. Pistoia V, Morandi F, Wang X, Ferrone S. Soluble HLA-G: Are they clinically relevant? *Semin Cancer Biol.* 2007;17(6):469–479. doi: 10.1016/j.semcancer.2007.07.004.
23. Gratchev A, Kzhyshkowska J, Utikal J, Goerdts S. Interleukin-4 and dexamethasone counter-regulate extracellular matrix remodelling and phagocytosis in type-2 macrophages. *Scand J Immunol.* 2005;61(1):10–17. doi: 10.1111/j.0300-9475.2005.01524.x.
24. Gratchev A, Schledzewski K, Guillot P, Goerdts S. Alternatively activated antigen-presenting cells: molecular repertoire, immune regulation, and healing. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol.* 2001;14(5):272–279. doi: 10.1159/000056357.
25. Politz O, Gratchev A, McCourt PA, Schledzewski K, Guillot P, Johansson S, Svineng G, Franke P, Kannicht C, Kzhyshkowska J, Longati P, Velten FW, Johansson S, Goerdts S. Stabilin-1 and -2 constitute a novel family of fas-



- ciclin-like hyaluronan receptor homologues. *Biochem J.* 2002;362(Pt 1):155–164. doi: 10.1042/0264-6021:3620155.
26. Lewis CE, Pollard JW. Distinct role of macrophages in different tumor microenvironments. *Cancer Res.* 2006;66(2):605–612. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-4005.
27. Mellor AL, Munn DH. Creating immune privilege: active local suppression that benefits friends, but protects foes. *Nat Rev Immunol.* 2008;8(1):74–80. doi: 10.1038/nri2233.
28. Debatin KM. Apoptosis pathways in cancer and cancer therapy. *Cancer Immunol Immunother.* 2004;53(3):153–159. doi: 10.1007/s00262-003-0474-8.
29. Zhang L, Fang B. Mechanisms of resistance to TRAIL-induced apoptosis in cancer. *Cancer Gene Ther.* 2005;12(3):228–237. doi: 10.1038/sj.cgt.7700792.
30. Crowther M, Brown NJ, Bishop ET, Lewis CE. Microenvironmental influence on macrophage regulation of angiogenesis in wounds and malignant tumors. *J Leukoc Biol.* 2001;70(4):478–490.
31. Papetti M, Herman IM. Mechanisms of normal and tumor-derived angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2002;282(5):C947–970. doi: 10.1152/ajpcell.00389.2001.
32. Indraccolo S, Stievano L, Minuzzo S, Tosello V, Esposito G, Piovani E, Zamarchi R, Chieco-Bianchi L, Amadori A. Interruption of tumor dormancy by a transient angiogenic burst within the tumor microenvironment. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(11):4216–4221. doi: 10.1073/pnas.0506200103.
33. Naumov GN, Bender E, Zurakowski D, Kang SY, Sampson D, Flynn E, Watnick RS, Straume O, Akslen LA, Folkman J, Almog N. A model of human tumor dormancy: an angiogenic switch from the nonangiogenic phenotype. *J Natl Cancer Inst.* 2006;98(5):316–325. doi: 10.1093/jnci/djj068.
34. Burke B, Lewis CE, editors. *The Macrophage.* Oxford: Oxford University Press; 2002.
35. Ochoa MC, Minute L, Rodriguez I, Garasa S, Perez-Ruiz E, Inogés S, Melero I, Berraondo P. Antibody-dependent cell cytotoxicity: immunotherapy strategies enhancing effector NK cells. *Immunol Cell Biol.* 2017;95(4):347–355. doi: 10.1038/icb.2017.6.
36. Li B, Xu L, Tao F, Xie K, Wu Z, Li Y, Li J, Chen K, Pi C, Mendelsohn A, Larrick JW, Gu H, Fang J. Simultaneous exposure to FcγR and FcαR on monocytes and macrophages enhances antitumor activity in vivo. *Oncotarget.* 2017;8(24):39356–39366. doi: 10.18632/oncotarget.17000.
37. Zhang M, Wen B, Anton OM, Yao Z, Dubois S, Ju W, Sato N, DiLillo DJ, Bamford RN, Ravetch JV, Waldmann TA. IL-15 enhanced antibody-dependent cellular cytotoxicity mediated by NK cells and macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018;115(46):E10915–E10924. doi: 10.1073/pnas.1811615115.
38. Drysdale BE, Agarwal S, Shin HS. Macrophage-mediated tumoricidal activity: mechanisms of activation and cytotoxicity. *Prog Allergy.* 1988;40:111–161.
39. Munn DH, Cheung NK. Antibody-independent phagocytosis of tumor cells by human monocyte-derived macrophages cultured in recombinant macrophage colony-stimulating factor. *Cancer Immunol Immunother.* 1995;41(1):46–52. doi: 10.1007/BF01788959.
40. Barozzi I, Simonatto M, Bonifacio S, Yang L, Rohs R, Ghisletti S, Natoli G. Coregulation of transcription factor binding and nucleosome occupancy through DNA features of mammalian enhancers. *Mol Cell.* 2014;54(5):844–857. doi: 10.1016/j.molcel.2014.04.006.
41. Boehm U, Klamp T, Groot M, Howard JC. Cellular responses to interferon-gamma. *Annu Rev Immunol.* 1997;15:749–795. doi: 10.1146/annurev.immunol.15.1.749.
42. Uslu R, Bonavida B. Involvement of the mitochondrial respiratory chain in the synergy achieved by treatment of human ovarian carcinoma cell lines with both tumor necrosis factor-alpha and cis-diamminedichloroplatinum. *Cancer.* 1996;77(4):725–732.
43. Willems MM, Zom GG, Meeuwenoord N, Khan S, Ossendorp F, Overkleef HS, van der Marel GA, Filippov DV, Codée JD. Lipophilic Muramyl Dipeptide-Antigen Conjugates as Immunostimulating Agents. *Chem Med Chem.* 2016;11(2):190–198. doi: 10.1002/cmdc.201500196.
44. Namba K, Yamamura E, Nitani H, Otani T, Azuma I. Romurtide, a synthetic muramyl dipeptide derivative, promotes megakaryocytopoiesis through stimulation of cytokine production in nonhuman primates with myelosuppression. *Vaccine.* 1997;15(4):405–413. doi: 10.1016/s0264-410x(96)00193-4.
45. Yang L, Dai F, Tang L, Le Y, Yao W. Macrophage differentiation induced by PMA is mediated by activation of RhoA/ROCK signaling. *J Toxicol Sci.* 2017;42(6):763–771. doi: 10.2131/jts.42.763.
46. Daigneault M, Preston JA, Marriott HM, Whyte MK, Dockrell DH. The identification of markers of macrophage differentiation in PMA-stimulated THP-1 cells and monocyte-derived macrophages. *PLoS One.* 2010;5(1):e8668. doi: 10.1371/journal.pone.0008668.
47. Cassetta L, Pollard JW. Targeting macrophages: therapeutic approaches in cancer. *Nat Rev Drug Discov.* 2018;17(12):887–904. doi: 10.1038/nrd.2018.169.
48. Moisan F, Francisco EB, Brozovic A, Duran GE, Wang YC, Chaturvedi S, Seetharam S, Snyder LA, Doshi P, Sikic BI. Enhancement of paclitaxel and carboplatin therapies by CCL2 blockade in ovarian cancers. *Mol Oncol.* 2014;8(7):1231–1239. doi: 10.1016/j.molonc.2014.03.016.
49. Guerriero JL. Macrophages: The Road Less Traveled, Changing Anticancer Therapy. *Trends Mol Med.* 2018;24(5):472–489. doi: 10.1016/j.molmed.2018.03.006.
50. Bonapace L, Coissieux MM, Wyckoff J, Mertz KD, Varga Z, Junt T, Bentires-Alj M. Cessation of CCL2 inhibition accelerates breast cancer metastasis by promoting angiogenesis. *Nature.* 2014;515(7525):130–133. doi: 10.1038/nature13862.
51. Loberg RD, Ying C, Craig M, Yan L, Snyder LA, Pienta KJ. CCL2 as an important mediator of prostate cancer growth in vivo through the regulation of macrophage infiltration. *Neoplasia.* 2007;9(7):556–562. doi: 10.1593/neo.07307.
52. Loberg RD, Ying C, Craig M, Day LL, Sargent E, Neeley C, Wojno K, Snyder LA, Yan L, Pienta KJ. Targeting CCL2 with systemic delivery of neutralizing antibodies induces prostate cancer tumor regression in vivo. *Cancer Res.* 2007;67(19):9417–9424. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-1286.
53. Wynn TA, Chawla A, Pollard JW. Macrophage biology in development, homeostasis and disease. *Nature.* 2013;496(7446):445–455. doi: 10.1038/nature12034.
54. Kowal J, Kornete M, Joyce JA. Re-education of macrophages as a therapeutic strategy in cancer. *Immunotherapy.* 2019;11(8):677–689. doi: 10.2217/imt-2018-0156.
55. Lin F, Xiong M, Hao W, Song Y, Liu R, Yang Y, Yuan X, Fan D, Zhang Y, Hao M, Ye Z, Lu Y, Zhang Y, Wang J, Xiong D. A Novel Blockade CD47 Antibody With Therapeutic Potential for Cancer. *Front Oncol.* 2021;10:615534. doi: 10.3389/fonc.2020.615534.
56. Khalil M, Vonderheide RH. Anti-CD40 agonist antibodies: preclinical and clinical experience. *Update Cancer Ther.* 2007;2(2):61–65. doi: 10.1016/j.uct.2007.06.001.
57. Kaczanowska S, Joseph AM, Davila E. TLR agonists: our best frenemy in cancer immunotherapy. *J Leukoc Biol.* 2013;93(6):847–863. doi: 10.1189/jlb.1012501.
58. Ma HS, Poudel B, Torres ER, Sidhom JW, Robinson TM, Christmas B, Scott B, Cruz K, Woolman S, Wall VZ, Armstrong T, Jaffee EM. A CD40 Agonist and PD-1 Antagonist Antibody Reprogram the Microenvironment of Nonimmunogenic Tumors to Allow T-cell-Mediated Anticancer Activity. *Cancer Immunol Res.* 2019;7(3):428–442. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-18-0061.
59. Yan D, Kowal J, Akkari L, Schuhmacher AJ, Huse JT, West BL, Joyce JA. Inhibition of colony stimulating factor-1 receptor abrogates microenvironment-mediated therapeutic resistance in gliomas. *Oncogene.* 2017;36(43):6049–6058. doi: 10.1038/onc.2017.261.
60. Tap WD, Wainberg ZA, Anthony SP, Ibrahim PN, Zhang C, Healey JH, Chmielowski B, Staddon AP, Cohn AL, Shapiro GI, Keedy VL,



Singh AS, Puzanov I, Kwak EL, Wagner AJ, Von Hoff DD, Weiss GJ, Ramanathan RK, Zhang J, Habets G, Zhang Y, Burton EA, Visor G, Sanftner L, Severson P, Nguyen H, Kim MJ, Marimuthu A, Tsang G, Shellooe R, Gee C, West BL, Hirth P, Nolop K, van de Rijn M, Hsu HH, Peterfy C, Lin PS, Tong-Starksen S, Bollag G. Structure-Guided Blockade of CSF1R Kinase in Tenosynovial Giant-Cell Tumor. *N Engl J Med.* 2015;373(5):428–437. doi: 10.1056/NEJMoa1411366.

61. Strachan DC, Ruffell B, Oei Y, Bissell MJ, Cousens LM, Pryer N, Daniel D. CSF1R inhibition delays cervical and mammary tumor growth in murine models by attenuating the turnover of tumor-associated macrophages and enhancing infiltration by CD8⁺ T cells. *Oncoimmunology.* 2013;2(12):e26968. doi: 10.4161/onci.26968.

62. Van Rooijen N, Sanders A. Liposome mediated depletion of macrophages: mechanism of action, preparation of liposomes and applications. *J Immunol Methods.* 1994;174(1–2):83–93. doi: 10.1016/0022-1759(94)90012-4.

63. Banciu M, Metselaar JM, Schiffelers RM, Storm G. Antitumor activity of liposomal prednisolone phosphate depends on the presence of functional tumor-associated macrophages in tumor tissue. *Neoplasia.* 2008;10(2):108–117. doi: 10.1593/neo.07913.

64. De Rosa G, Misso G, Salzano G, Caraglia M. Bisphosphonates and cancer: what opportunities from nanotechnology? *J Drug Deliv.* 2013;2013:637976. doi: 10.1155/2013/637976.

Macrophage cytotoxic activity and its role in the tumor pathogenesis

O.V. Kovaleva¹ • P.A. Podlesnaya¹ • A.N. Gratchev¹

Macrophages, natural killers and T cells play the central role in tumor cells destruction. The purpose of this review is to summarize the state-of-the-art perspectives of the interplay between tumor cells and tumor stroma leading both to the formation of a macrophage population incapable of effective antitumor activity and to the selection of tumor cells resistant to macrophage cytotoxicity. Macrophages are highly versatile cells that can both stimulate the inflammatory response (type 1 macrophages, M1) and suppress it (type 2 macrophages, M2). Tumor-associated macrophages (TAMs) are considered the main regulator of the antitumor immune response and usually have anti-inflammatory properties, that is, they belong to M2 type. Tumor cells are able to affect macrophages, "reprogramming" them to perform an immunosuppressive function. In addition, TAMs stimulate angiogenesis and remodelling of the extracellular matrix necessary for metastasis. Recently, more and more studies have been published describing a mixed TAMs phenotype with characteristics of both M2 and M1. M1 is characterized by production of pro-inflammatory cytokines, reactive oxygen species, bactericidal and cytotoxic activity. M1 can destroy tumor cells both directly

and indirectly by attracting other cells. Despite the mechanisms of direct cytotoxic activity are quite variable, their effectiveness is largely dependent on the properties of a particular tumor. The cytotoxic activity of macrophages is a powerful factor that inhibits tumor initiation and progression. However, in some cases, it is not sufficient to control the tumor process. Activation of the cytotoxic activity of TAMs is one of the strategies to use macrophages for cancer treatment.

Understanding the mechanisms of macrophage cytotoxic activity and specific patterns of its manifestation in a tumor environment is of critical importance for better effectiveness of existing cancer treatments and development of promising methods for tumor immunotherapy.

Key words: macrophage, immunity, cytokine, tumor

For citation: Kovaleva OV, Podlesnaya PA, Gratchev AN. Macrophage cytotoxic activity and its role in the tumor pathogenesis. *Almanac of Clinical Medicine.* 2022;50(1):13–20. doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-008.

Received 21 March 2022; revised 28 March 2022; accepted 4 April 2022; published online 5 April 2022

Funding

The paper has been prepared under financial support from the Russian Foundation for Basic Research grant for the research project No. 20-015-00479.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests.

Authors' contributions

O.V. Kovaleva, text writing; P.A. Podlesnaya, data collection and analysis; A.N. Gratchev, the paper concept, text editing. All the authors have read and approved the final version of the manuscript before submission, agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work have been appropriately investigated and resolved.

Olga V. Kovaleva – PhD (in Biol.), Senior Research Fellow, Laboratory of Regulation of Cellular and Viral Oncogenes, Research Institute of Carcinogenesis¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6132-9924>
✉ 24 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation. Tel.: +7 (903) 764 42 18.
E-mail: ovkovaleva@gmail.com

Polina A. Podlesnaya – Research Assistant, Laboratory of Tumor Stromal Cells Biology, Research Institute of Carcinogenesis¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2312-5546>.
E-mail: polina.pod@yandex.ru

Alexei N. Gratchev – Doctor of Biol. Sci., Head of Laboratory of Tumor Stromal Cells Biology¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2137-1866>.
E-mail: alexei.gratchev@gmail.com

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology; 24 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation



Оригинальная статья

Клинические особенности метилирования генов микроРНК в пограничных опухолях яичников и в зависимости от гистологического строения злокачественных опухолей яичников

Лукина С.С.¹ • Бурденный А.М.¹ • Филиппова Е.А.¹ • Пронина И.В.¹ • Казубская Т.П.² • Кушлинский Д.Н.² • Уткин Д.О.³ • Брага Э.А.¹ • Логинов В.И.¹ • Кушлинский Н.Е.²

Лукина Светлана Сергеевна – науч. сотр. лаборатории патогеномики и транскриптомики¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6246-2444>. E-mail: sveta_sergeevna349@mail.ru

Бурденный Алексей Михайлович – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории патогеномики и транскриптомики¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9398-8075>. E-mail: burdennyu@gmail.com

Филиппова Елена Александровна – канд. мед. наук, науч. сотр. лаборатории патогеномики и транскриптомики¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7172-0433>. E-mail: p.lenyxa@yandex.ru

Пронина Ирина Валерьевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории патогеномики и транскриптомики¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0423-7801>. E-mail: zolly_sten@mail.ru

Казубская Татьяна Павловна – д-р мед. наук, врач-онкогенетик высшей категории, ст. науч. сотр. лаборатории клинической онкогенетики²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5856-0017>. E-mail: oncogen5@ronc.ru

Кушлинский Дмитрий Николаевич – врач-онколог, лаборатория клинической биохимии и лабораторной диагностики². E-mail: biochimia@yandex.ru

Уткин Дмитрий Олегович – врач-хирург первой квалификационной категории, отделение онкогинекологии³. E-mail: burdennyu@gmail.com

Брага Элеонора Александровна – д-р биол. наук, профессор, гл. науч. сотр., заведующая лабораторией патогеномики и транскриптомики¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5188-4094>

✉ 125315, г. Москва, ул. Балтийская, 8, Российская Федерация. Тел.: +7 (917) 545 43 93. E-mail: eleonora10_45@mail.ru

Логинов Виталий Игоревич – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории патогеномики и транскриптомики¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2668-8096>. E-mail: loginov7w@gmail.com

Кушлинский Николай Евгеньевич – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, заведующий лабораторией клинической биохимии и лабораторной диагностики²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3898-4127>. E-mail: biochimia@yandex.ru

Обоснование. Пограничные опухоли яичников (ПОЯ) представляют собой промежуточный тип между доброкачественными и злокачественными новообразованиями яичников. Серозные пограничные опухоли имеют общие молекулярные и генетические особенности с серозными карциномами. Ранее было показано повышение уровня метилирования группы генов микроРНК (миРНК) при развитии и прогрессии рака яичников. Однако результаты исследований противоречивы, а их количество недостаточно для формирования единого мнения. В данной работе впервые проведен поиск aberrантно метилированных генов миРНК, специфичных для ПОЯ и некоторых гистологических подтипов рака яичников.

Материал и методы. В исследовании использовали выборку из 99 парных (опухоль/норма) образцов опухолей яичников. Анализ метилирования проводился с применением метода количественной метилспецифичной полимеразной цепной реакции. Скрининг биомаркеров ПОЯ выполнен среди 21 гена миРНК.

Результаты. Мы обнаружили, что некоторые гены миРНК (*MIR124-1*, *MIR125B-1*, *MIR129-2*, *MIR132*, *MIR148A*, *MIR193A*, *MIR203A*, *MIR107*, *MIR1258*, *MIR339*) характеризовались высоким уровнем метилирования в группе больных ПОЯ в сравнении с тканями здоровых женщин. При этом в группе больных злокачественными опухолями яичников (ЗОЯ) уровень их метилирования либо отличался незначительно, либо даже снижался. Для генов *MIR129-2*, *MIR132*, *MIR148A*, *MIR203*, *MIR107* и *MIR1258* выявлен более высокий уровень метилирования в образцах больных ПОЯ в сравнении с образцами больных ЗОЯ.

Уровень метилирования гена *MIR148A* в ПОЯ был в 4 раза выше, чем в ЗОЯ (31,3% против 7,9%, $p=0,047$, множественный двусторонний тест Краскела – Уоллиса). Уровни метилирования генов миРНК *MIR148A* и *MIR191* статистически значимо снижены в серозной цистаденокарциноме и повышены в серозной и эндометриоидной аденокарциномах.

Заключение. Метилирование генов миРНК *MIR148A* и *MIR191* связано с различными гистологическими вариантами рака яичников. Показан повышенный уровень метилирования ряда генов миРНК в ПОЯ в сравнении с ЗОЯ. В целом отмечено влияние эпигенетических факторов на клинические различия гистологических форм рака яичников и пограничной формы.

Ключевые слова: пограничные опухоли яичников, злокачественные опухоли яичников, гистологический тип рака яичников, метилирование генов микроРНК, ген *MIR148A*

Для цитирования: Лукина СС, Бурденный АМ, Филиппова ЕА, Пронина ИВ, Казубская ТП, Кушлинский ДН, Уткин ДО, Брага ЭА, Логинов ВИ, Кушлинский НЕ. Клинические особенности метилирования генов микроРНК в пограничных опухолях яичников и в зависимости от гистологического строения злокачественных опухолей яичников. Альманах клинической медицины. 2022;50(1):21–30. doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-001.

Поступила 29.10.2021; доработана 10.11.2021; принята к публикации 12.11.2021; опубликована онлайн 17.02.2022

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; 125315, г. Москва, ул. Балтийская, 8, Российская Федерация

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава России; 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 23, Российская Федерация

³ ГБУЗ г. Москвы «Московская городская онкологическая больница № 62 ДЗМ»; 143423, Красногорский район, пос. Истра, 27, Российская Федерация



Кпограничным опухолям яичников (ПОЯ), также известным как атипически пролиферирующие опухоли, относят новообразования, которые характеризуются атипичной эпителиальной пролиферацией и не имеют инвазии в строму. Данный тип опухоли в большинстве случаев имеет благоприятный прогноз и редко склонен к злокачественной трансформации [1, 2]. Из всех эпителиальных новообразований яичников на ПОЯ приходится 15–20%. К наиболее распространенным типам ПОЯ относятся серозные (53%) и муцинозные (43%). Другие типы, в том числе пограничные эндометриоидные, светлоклеточные и опухоли Бреннера, обнаруживаются лишь в 4% наблюдений [3]. Серозные ПОЯ имеют общие молекулярные и генетические черты с серозными карциномами низкой степени злокачественности и могут присутствовать на более тяжелых стадиях рака с перитонеальными имплантатами и/или поражением лимфатических узлов, что подтверждает их злокачественный потенциал. ПОЯ так называемых несерозных гистологических типов, к которым относятся муцинозные, эндометриоидные, светлоклеточные и Бреннера, обычно характеризуются односторонней локализацией без имплантации в перитонеальное пространство и благоприятным прогнозом [2–4].

К настоящему времени накоплена обширная информация о влиянии аномальной экспрессии микроРНК (миРНК) на развитие и прогрессию рака яичников. Однако имеются ограниченные данные о дифференциальном паттерне этой экспрессии, связанном с гистологическими типами рака яичников, и единичные сообщения о паттерне экспрессии миРНК и в доброкачественных опухолях яичников, и в пограничных [5–7]. Так, миРНК, специфичные для ПОЯ, были наиболее подробно изучены в работе [5], где экспрессия 4 миРНК (miR-30c, miR-30d, miR-30e-3p, miR-370) значительно различалась между карциномами и доброкачественными опухолями яичников, а также между карциномой и пограничными опухолями. Еще 3 миРНК (miR-181d, miR-30a-3p, miR-532-5p) значительно различались только между ПОЯ и карциномами. Экспрессия miR-532-5p была существенно ниже в пограничных опухолях, чем в доброкачественных. Среди карцином яичников экспрессия 4 миРНК (miR-30a-3p, miR-30c, miR-30d, miR-30e-3p) была самой низкой в муцинозной и самой высокой в образцах светлоклеточной карциномы. В работе [8] обнаружено, что экспрессия miR-106b, напротив, значительно выше в нормальных тканях яичников

и доброкачественных опухолях, чем в карциномах яичников и пограничных опухолях ($p < 0,01$). Коллективом авторов [9] проведен анализ экзосомных миРНК в сыворотке 68 новообразований яичников, включая доброкачественные кисты яичников ($n = 10$), ПОЯ ($n = 10$), серозные карциномы яичников высокой ($n = 39$) и низкой ($n = 9$) степени дифференцировки, что позволило отобрать экзосомные миРНК miR-93, miR-145 и miR-200c со значительно повышенным уровнем экспрессии в сыворотке больных раком яичников. Сывороточные экзосомальные miR-145 и miR-200c отобраны как биомаркеры для предоперационной диагностики карцином яичников [9].

Отмечено, что промоторные CpG-островки генов миРНК aberrантно метилируются, подобно генам, кодирующим белок, и что процент генов, deregулируемых с помощью aberrантного метилирования, значительно выше среди первых генов, чем среди вторых [10]. Ранее нами показана высокая эффективность анализа метилирования генов миРНК для оценки степени развития и прогрессии рака яичников и определены наборы маркеров для диагностики и прогноза рака яичников [11–13]. В данной работе впервые проведен поиск aberrантно метилированных генов миРНК, специфичных для ПОЯ и некоторых гистологических подтипов рака яичников. Скрининг биомаркеров ПОЯ выполнен среди 21 гена миРНК.

Материал и методы

Клинический материал

Образцы рака яичников собраны и морфологически охарактеризованы в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. В исследование включено 93 больных злокачественными опухолями яичников (ЗОЯ) в возрасте 25–81 года, а также 6 больных ПОЯ в возрасте 14–39 лет, проходивших обследование и лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в период с 1995 по 2019 г. Использовали материал от пациенток, которые до операции не получали лучевую, химио- или гормонотерапию. Диагноз установлен на основании гистологического заключения. В качестве контроля взяты образцы ткани яичников 15 женщин, умерших без признаков онкологических заболеваний по данным анамнеза.

Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964, 2004), все пациенты подписали информированное добровольное согласие. Все опухоли яичников классифицированы в соответствии



с TNM-классификацией Международного противоракового союза и гистологически верифицированы на основании критериев классификации Всемирной организации здравоохранения [14]. Исследование выполнено по международным правилам работы с биоматериалом людей. ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» получено соглашение от 20.01.2020 № 20/1 о взаимном сотрудничестве с ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

В табл. 1 приведены количественные данные по гистологическому составу ЗОЯ всех исследованных образцов. Для отбора образцов с высоким содержанием опухолевых клеток (не менее 70–80%) проводили дополнительный гистологический анализ микросрезов (3–5 мкм), окрашенных гематоксилином и эозином. Образцы тканей хранили при -70°C .

Методы

Полученные в ходе биопсии или оперативного вмешательства образцы объемом до 100 мм^3 измельчали с использованием гомогенизатора-диспергатора Ultra-Turrax T10 basic (IKA, Германия). Высокомолекулярную ДНК выделяли из ткани по стандартной методике с применением фенол-хлороформной экстракции. Качество и концентрацию ДНК определяли по оптической плотности на спектрофотометре NanoDrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific, США). Уровень метилирования генов миРНК анализировали методом количественной метилспецифичной полимеразной цепной реакции с детекцией в реальном времени с применением бисульфитной конверсии ДНК (0,5–2,0 мкг), как описано в работах [15–18]. Набор реактивов qPCRmix-HS SYBR («Евроген», Россия) использовали в соответствии с рекомендациями производителя. Амплификацию проводили в системе CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, США) по протоколу производителя. Последовательности олигонуклеотидов и условия проведения полимеразной цепной реакции для исследованных генов миРНК взяты из работ [12, 16, 19]. Полноту конверсии ДНК определяли с помощью контрольного локуса гена *ACTB* с применением олигонуклеотидов, специфичных к неконвертированной матрице [16]. В качестве контролей для неметилированных аллелей использовали коммерческий препарат ДНК #G1471 (Promega, США). В качестве положительного контроля 100%-го метилирования применяли коммерческий препарат ДНК #SD1131 (Thermo Fisher Scientific).

Таблица 1. Распределение больных злокачественными опухолями яичников в зависимости от гистологического варианта строения опухоли

| Гистологический вариант | Частота, абс. (%) |
|-------------------------------|-------------------|
| Серозная аденокарцинома | 44 (47,3) |
| Серозная цистаденокарцинома | 38 (40,9) |
| Муцинозная цистаденокарцинома | 1 (1,0) |
| Эндометриодная аденокарцинома | 10 (10,8) |

Для статистической обработки полученных данных использовали программы IBM SPSS Statistics 22 и STATISTICA 10. Она включала определение медианы (Me), интерквартильного размаха [Q1; Q3] и минимального и максимального значений (min–max). Для оценки статистической значимости различий применялись непараметрические критерии Манна – Уитни и Краскела – Уоллиса. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Гены микроРНК, специфично гиперметилированные в пограничных опухолях яичников

В табл. 2 обобщены результаты анализа метилирования 21 гена миРНК в образцах ПОЯ, ЗОЯ и группы контроля. Оказалось, что уровни метилирования 8 генов миРНК, а именно *MIR124-2*, *MIR124-3*, *MIR127*, *MIR137*, *MIR375*, *MIR9-1*, *MIR9-3*, *MIR130B*, были выше в группе ЗОЯ в сравнении с группой ПОЯ и группой контроля (рис. 1). Интересно, что значения медиан 6 других генов – *MIR129-2*, *MIR132*, *MIR148A*, *MIR203*, *MIR107* и *MIR1258* – были, наоборот, выше в группе ПОЯ, чем ЗОЯ (см. табл. 2). При этом различия в уровнях метилирования гена *MIR148A* в группах ПОЯ и ЗОЯ статистически значимы ($p = 0,047$, рис. 2, см. табл. 2), а в группах больных ЗОЯ и контроля – незначимы (7,9 против 5,0). На основании этих данных можно предположить специфическую роль гена *MIR148A* в развитии ПОЯ.

При сравнении группы контроля и больных ПОЯ статистически значимые различия установлены для 7 из 21 изучаемого гена ($p < 0,05$, рис. 3). Отметим: 10 генов миРНК (*MIR124-1*, *MIR125B-1*, *MIR129-2*, *MIR132*, *MIR148A*, *MIR193A*, *MIR203A*, *MIR107*, *MIR1258*, *MIR339*) характеризовались высоким уровнем метилирования в опухолях больных ПОЯ в сравнении с тканями яичников здоровых женщин, в отсутствие значимого изменения в группе больных ЗОЯ (рис. 4).

**Таблица 2.** Данные анализа метилирования генов микроРНК в образцах ткани яичников разных групп больных и группы контроля

| Ген <i>MIR</i> | Метилирование в ткани яичников, Me [Q1; Q3], min–max, % | | | Значение p^* (FDR=0,01) |
|----------------|---|-----------------------------|-----------------------------|---|
| | Контроль (n = 15) | Ткань опухоли яичников | | |
| | | ПОЯ (n = 6) | ЗОЯ (n = 93) | |
| 124-1 | 0,5 [0,2; 3,1], 0,1–9,2 | 14,0 [8,9; 24,0], 8,8–45,0 | 10,0 [2,6; 21,6], 0–67,3 | $p_{0-2} < 0,0001$ $p_{0-1} = 0,003$ |
| 124-2 | 7,4 [0,2; 13,1], 0,1–19,5 | 19,0 [11,0; 36,5], 6,4–92,3 | 29,0 [6,8; 51,7], 0–98,1 | $p_{0-2} = 0,0017$ |
| 124-3 | 4,7 [0,3; 8,9], 0,1–17,8 | 16,8 [12,7; 30,9], 9,6–34,6 | 21,4 [8,5; 41,7], 0,04–95,3 | $p_{0-2} < 0,0001$ |
| 125B-1 | 5,6 [1,6; 11,4], 1,1–16,2 | 36,6 [1,5; 75,1], 0,4–97,3 | 34,8 [11,2; 60,6], 0,1–99,3 | $p_{0-2} < 0,0001$ |
| 127 | 8,8 [0,9; 11,1]; 0,2–18,8 | 12,7 [1,6; 20,4], 1,0–31,0 | 27,6 [4,8; 53,9], 0,08–93,3 | $p_{0-2} < 0,001$ |
| 129-2** | 8,2 [4,9; 11,2], 4,3–13,3 | 51,6 [12,7; 87,4], 2,1–89,0 | 31,2 [10,3; 51,5], 0,3–99,3 | $p_{0-2} < 0,001$ $p_{0-1} = 0,036$ |
| 132** | 1,3 [0,1; 4,3], 0,1–9,0 | 25,6 [7,6; 47,2], 0,2–62,5 | 9,8 [3,6; 31,9], 0,05–98,8 | $p_{0-2} < 0,0001$ $p_{0-1} = 0,008$ |
| 137 | 7,5 [2,9; 10,0], 0,3–13,2 | 22,9 [1,8–76,7], 1,0–90,0 | 31,1 [2,5; 56,9], 0–98,5 | $p_{0-2} = 0,018$ |
| 148A** | 5,0 [3,0; 10,9], 0,1–13,6 | 31,3 [25,0; 50,0], 9,9–90,8 | 7,9 [1,9; 28,7], 0–94,4 | $p_{0-1} = 0,018$ $p_{1-2} = 0,047$ |
| 191 | 28,5 [13,8; 32,9], 8,6–94,4 | 4,8 [1,8; 22,2], 1,7–33,8 | 7,0 [2,4; 25,8], 0,01–90,7 | $p_{0-2} = 0,006$ |
| 193A | 4,5 [0,3; 7,3], 0,1–12,2 | 32,1 [8,5; 38,3], 0,1–53,1 | 34,8 [15,4; 56,4], 0,1–98,4 | $p_{0-2} < 0,0001$ |
| 203** | 6,9 [0,9; 9,9], 0,1–15,2 | 13,8 [0,6; 74,5], 0,2–90,9 | 6,8 [1,3; 35,3], 0,01–98,2 | – |
| 212 | 4,6 [1,6; 8,3], 0,2–13,9 | 5,9 [0,4; 17,8], 0,03–70,5 | 4,8 [1,5; 12,6], 0,02–98,2 | – |
| 34B/C | 0,9 [0,4; 1,7], 0,1–7,7 | 21,3 [11,4; 27,4], 3,7–76,2 | 17,6 [3,1; 35,4], 0,01–98,1 | $p_{0-2} < 0,0001$ $p_{0-1} = 0,005$ |
| 375 | 1,0 [0,2; 2,8], 0,1–9,1 | 7,8 [2,2; 15,0], 0,01–28,2 | 10,9 [3,2; 34,2], 0–92,5 | $p_{0-2} < 0,001$ |
| 9-1 | 2,0 [1,4; 4,0], 0,1–8,8 | 7,3 [4,0; 10,0], 0,05–94,6 | 24,4 [7,7; 56,3], 0,01–93,6 | $p_{0-2} < 0,0001$ |
| 9-3 | 7,4 [5,2; 14,9], 0–18,0 | 10,7 [5,4; 24,8], 2,1–36,5 | 21,9 [7,2; 36,4], 0,02–98,3 | $p_{0-2} = 0,014$ |
| 130B | 1,6 [0,3; 2,9], 0–7,2 | 7,8 [1,6; 28,2], 1,4–91,4 | 16,9 [6,8; 32,5], 0,1–99,1 | $p_{0-2} < 0,0001$ |
| 107** | 7,2 [2,4; 10,2], 1,6–17,4 | 26,1 [18,2; 31,1], 3,5–92,3 | 15,7 [6,2; 53,5], 0–93,0 | $p_{0-2} = 0,024$ |
| 1258** | 1,0 [0,3; 12,2], 0,2–14,1 | 35,6 [17,0; 62,2], 4,2–70,2 | 11,2 [4,4; 40,8], 0,1–90,8 | $p_{0-2} < 0,001$ $p_{0-1} = 0,002$ |
| 339 | 7,9 [3,2; 9,4], 1,2–11,8 | 23,6 [9,2; 48,1], 8,2–99,9 | 21,2 [8,2; 54,3], 0,2–99,7 | $p_{0-2} < 0,001$ $p_{0-1} = 0,009$ |

FDR – false discovery rate, ожидаемая доля ложных отклонений, ЗОЯ – злокачественные опухоли яичников; ПОЯ – пограничные опухоли яичников

 p_{0-1} – различия между группой контроля и группой больных ПОЯ, p_{0-2} – различия между группой контроля и группой больных ЗОЯ, p_{1-2} – различия между группой больных ПОЯ и группой больных ЗОЯ

* Представлены только статистически значимые различия

** Гены, у которых значения медиан существенно выше в ПОЯ, чем в ЗОЯ

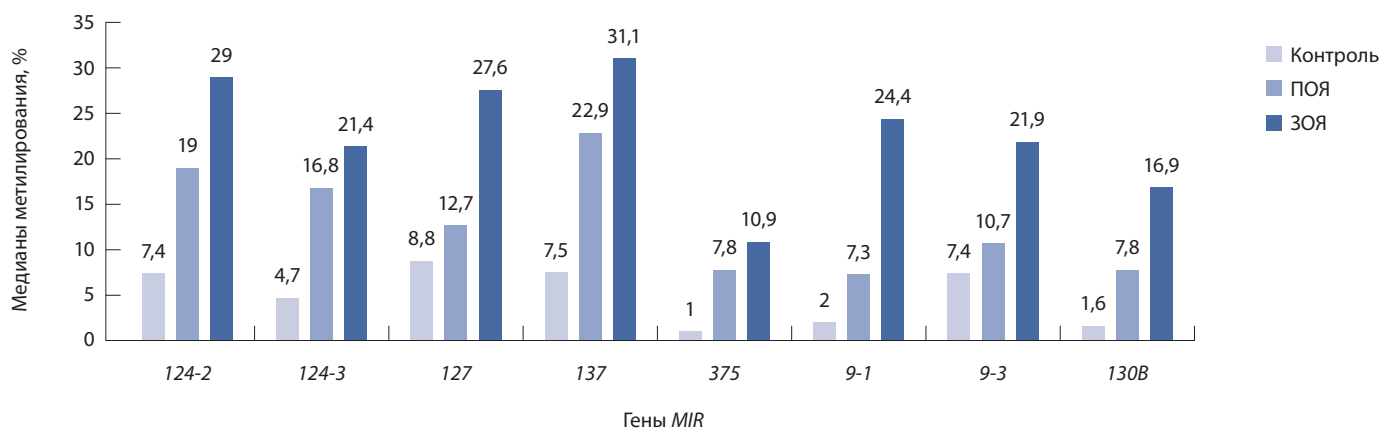


Рис. 1. Медианы уровней метилирования 8 генов миРНК в группе больных злокачественными опухолями яичников (ЗОЯ) в сравнении с больными с пограничными опухолями яичников (ПОЯ) и группой контроля

Наиболее существенное повышение (в 1,5–4 раза) уровня метилирования в образцах больных ПОЯ в сравнении с образцами больных ЗОЯ отмечено для 6 генов миРНК: *MIR129-2*, *MIR132*, *MIR148A*, *MIR203*, *MIR107* и *MIR1258* (см. табл. 2, рис. 4), что указывает на специфичную вовлеченность этих миРНК в патогенез ПОЯ. Повышенное метилирование данных супрессорных генов снижает их экспрессию и может увеличивать злокачественный потенциал ПОЯ.

Подобные попытки изучения статуса метилирования предпринимались и ранее при исследовании белок-кодирующих генов при раке яичников [20–22]. При этом существенных различий в статусе метилирования генов, кодирующих белки, в группах ПОЯ и ЗОЯ выявлено не было. Вместе с тем на данный момент нет ни одной публикации, в которой выполнен количественный анализ уровня метилирования миРНК в группах ПОЯ и ЗОЯ (поиск велся по базе PubMed, дата обращения: 14.10.2021). Наши результаты, свидетельствующие о существенно повышенном метилировании 6 генов миРНК (*MIR129-2*, *MIR132*, *MIR148A*, *MIR203*, *MIR107* и *MIR1258*, при этом различия в уровнях метилирования гена *MIR148A* статистически значимы) в группе ПОЯ, получены впервые. Таким образом, нами выявлены новые эпигенетические факторы, которые могут оказывать влияние на развитие и степень злокачественности ПОЯ и служить их биомаркерами. Обнаруженные нами новые эпигенетические регуляторные факторы и биомаркеры ПОЯ могут найти применение для целей диагностики и профилактики рака яичников. Эти данные могут быть использованы в клинике как критерии течения болезни и, как следствие, для изменения тактики лечения.

Сравнение уровней метилирования генов миРНК в злокачественных опухолях яичников в зависимости от гистологического типа опухоли. Проведено сравнение уровней метилирования 21 гена миРНК в опухолях яичников 4 гистологических типов: серозная аденокарцинома, серозная цистаденокарцинома, муцинозная цистаденокарцинома и эндометриодная аденокарцинома (табл. 3).

Наша выборка образцов представлена в основном серозной аденокарциномой (44 образца, 47,3%) и серозной цистаденокарциномой (38 образцов, 40,9%), которые составляют в сумме 82% исследованных ЗОЯ. Другие гистотипы присутствуют в меньшем количестве. Метилирование большинства генов распределено случайным образом между четырьмя гистологическими типами ЗОЯ, однако метилирование двух генов миРНК – *MIR148A* и *MIR191* – имеет особенности и значимо связано

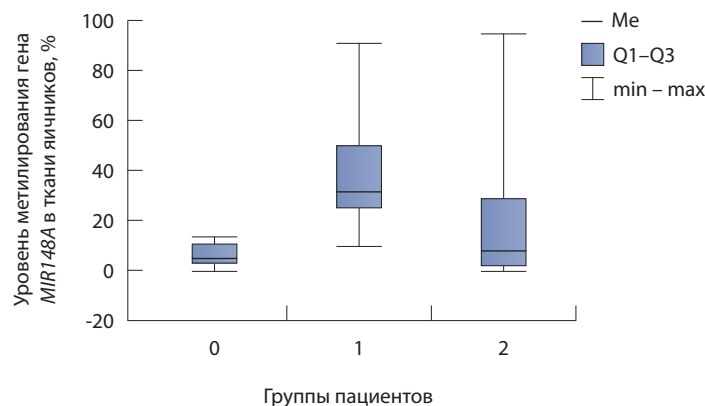


Рис. 2. Уровни метилирования гена *MIR148A* в ткани яичников в группе контроля (0), группе больных пограничными опухолями яичников (1) и группе больных злокачественными опухолями яичников (2)

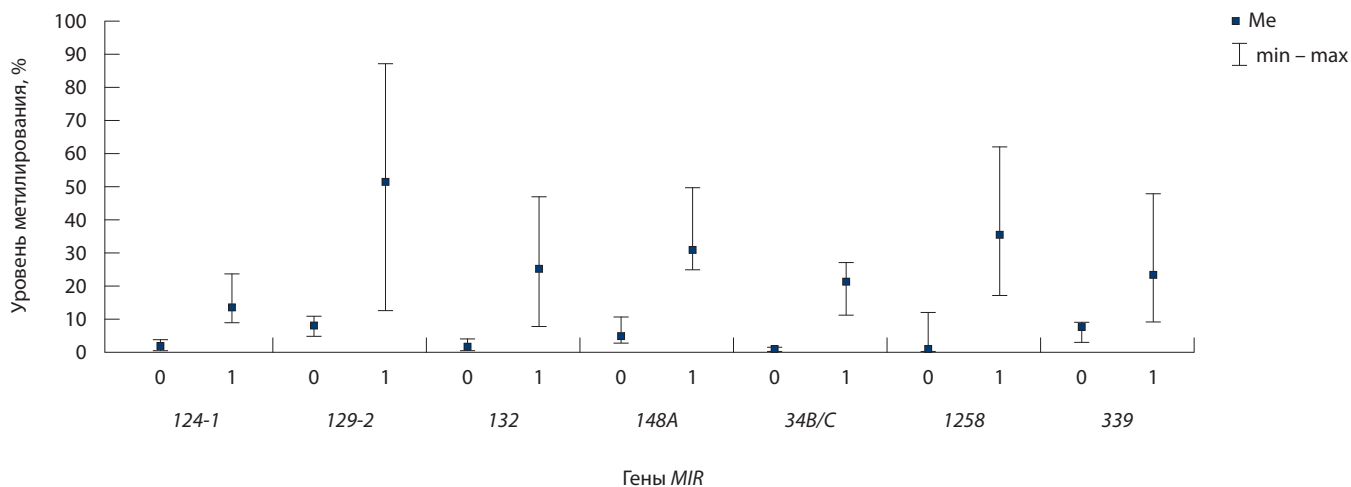


Рис. 3. Медианы и квартили уровней метилирования ряда генов в группе контроля (0) и группе больных пограничными опухолями яичников (1)

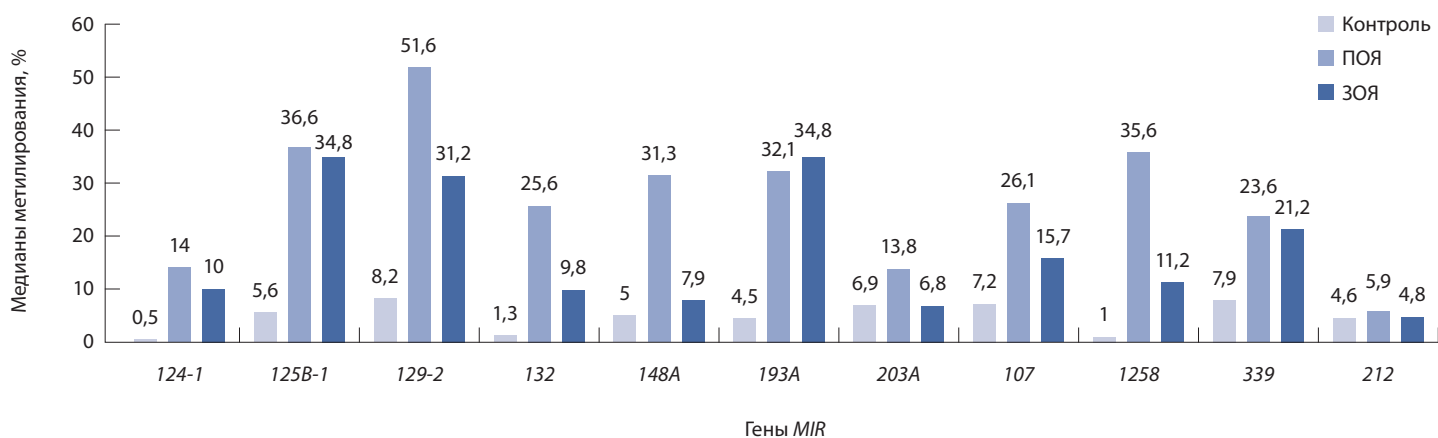


Рис. 4. Повышенные уровни метилирования 10 генов микроРНК в группе больных пограничными опухолями яичников (ПОЯ) в сравнении как с группой контроля, так и с группой больных злокачественными опухолями яичников (ЗОЯ) (кроме *MIR193A*)

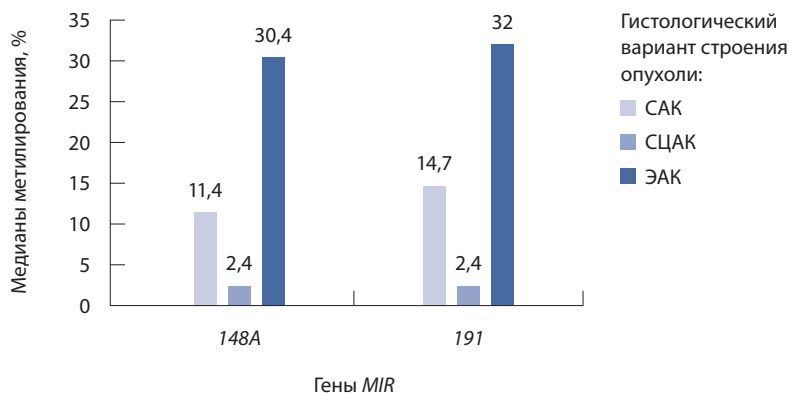


Рис. 5. Медианы метилирования генов микроРНК в ткани опухоли больных раком яичников, значимо связанных с гистологическим вариантом строения опухоли; САК – серозная аденокарцинома, СЦАК – серозная цистаденокарцинома, ЭАК – эндометриоидная аденокарцинома

со специфичными гистологическими вариантами рака яичников. Так, уровень метилирования гена *MIR148A* в группе больных серозной цистаденокарциномой статистически значимо меньше (2,4%) по сравнению как с вариантом серозной аденокарциномы (11,4%, $p=0,0003$), так и с вариантом эндометриоидной аденокарциномы (30,4%, $p=0,0011$, рис. 5). Аналогичная закономерность получена и при сравнении медиан метилирования гена *MIR191*. Так, в группе больных с вариантом серозной цистаденокарциномы медиана метилирования была статистически значимо меньше (2,4%) по сравнению с группами пациенток как с серозной аденокарциномой (14,7%, $p=0,0002$), так и с эндометриоидной аденокарциномой (32%, $p=0,0003$, см. рис. 5). У этих двух генов – *MIR148A* и *MIR191* – вдвое возрастает уровень



Таблица 3. Метилирование группы генов миРНК в образцах злокачественных опухолей яичников в зависимости от гистологического варианта строения опухоли

| Ген <i>MIR</i> | Метилирование в опухолевой ткани яичников, Ме [Q1; Q3], % | | | |
|----------------|---|-------------------|-------------------|------------|
| | Гистологический вариант строения опухоли | | | |
| | САК (n=44) | СЦАК (n=38) | ЭАК (n=10) | МЦАК (n=1) |
| 124-1 | 11,4 [3,3; 21,0] | 10,0 [2,6; 30,0] | 3,8 [0,4; 21,2] | 2,1 |
| 124-2 | 42,0 [7,2; 66,7] | 21,2 [6,8; 37,2] | 11,7 [3,0; 41,2] | 0 |
| 124-3 | 21,3 [11,9; 35,8] | 18,8 [4,8; 50,3] | 28,8 [8,6; 39,8] | 52,7 |
| 125B-1 | 32,8 [11,2; 57,6] | 35,5 [13,0; 69,1] | 33,4 [11,2; 85,0] | 7,1 |
| 127 | 35,9 [5,1; 56,1] | 18,8 [3,9; 45,0] | 34,5 [18,2; 45,1] | 54,3 |
| 129-2 | 32,1 [7,6; 46,6] | 39,4 [12,5; 84,3] | 23,0 [15,2; 31,2] | 2,9 |
| 132 | 9,4 [4,5; 16,9] | 11,5 [3,6; 57,3] | 11,7 [1,9; 35,3] | 0,1 |
| 137 | 36,6 [8,0; 53,1] | 33,3 [2,0; 60,1] | 12,7 [1,0; 64,4] | 2,3 |
| 148A* | 11,4 [5,9; 34,9] | 2,4 [1,1; 10,1] | 30,4 [7,2; 45,8] | 1,9 |
| 191* | 14,7 [4,9; 28,8] | 2,4 [0,7; 7,0] | 32,0 [11,2; 42,0] | 21,3 |
| 193A | 27,6 [14,5; 54,3] | 42,3 [9,0; 59,7] | 38,7 [24,9; 66,4] | 34,6 |
| 203A | 6,1 [0,9; 33,7] | 10,3 [2,6; 40,9] | 3,0 [1,0; 37,6] | 1,3 |
| 212 | 8,7 [1,6; 13,6] | 2,9 [1,1; 7,4] | 9,5 [0,5; 31,1] | 2,6 |
| 34B/C | 12,7 [3,8; 29,8] | 23,1 [2,3; 49,2] | 11,2 [1,3; 15,7] | 31,3 |
| 375 | 9,8 [0,5; 36,7] | 11,3 [4,3; 37,6] | 10,8 [8,1; 18,0] | 1,6 |
| 9-1 | 25,6 [10,6; 53,8] | 38,2 [3,0; 63,6] | 20,0 [2,2; 24,2] | 2,0 |
| 9-3** | 15,8 [5,9; 23,9] | 31,3 [13,5; 52,2] | 16,0 [4,6; 45,1] | 3,1 |
| 130B | 16,1 [7,3; 23,9] | 22,2 [6,8; 48,2] | 15,1 [4,5; 39,0] | 1,9 |
| 107 | 10,5 [5,8; 56,9] | 22,2 [6,2; 44,5] | 26,3 [8,3; 59,2] | 2,7 |
| 1258** | 8,2 [3,9; 27,2] | 25,1 [7,1; 56,2] | 5,0 [3,5; 8,0] | 27,2 |
| 339 | 18,7 [2,7; 49,3] | 21,1 [11,2; 59,1] | 22,0 [12,0; 26,5] | 44,6 |

МЦАК – муцинозная цистаденокарцинома, САК – серозная аденокарцинома, СЦАК – серозная цистаденокарцинома, ЭАК – эндометриодная аденокарцинома

* $p < 0,001$, FDR (false discovery rate, ожидаемая доля ложных отклонений) = 0,01

** $p < 0,05$, FDR (false discovery rate, ожидаемая доля ложных отклонений) = 0,01

метилирования у больных эндометриодной аденокарциномой (приблизительно от 10 до 30%).

Ген *MIR191* подвергается в ЗОЯ деметилированию, то есть проявляет онкогенные свойства, что принципиально отличает его от остальных исследованных нами генов миРНК, гиперметилированных в ЗОЯ.

На основании наших результатов, в том числе особенностей, выявленных для гена *MIR148A*, можно предположить его двойственную природу.

Под этим следует понимать тканеспецифичность данного гена и его способность быть как онкогеном, провоцируя развитие опухоли, так и супрессором, соответственно, подавляя ее. В этом свете интересной представляется роль метилирования как механизма дерегуляции данной миРНК, который может обуславливать ее двойственную природу.

Интересно отметить, что у гена *MIR148A* выше уровень метилирования у больных с серозной



и эндометриоидной аденокарциномой, но этот ген значимо деметилирован в опухолях больных с серозной цистаденокарциномой. При этом именно ген *MIR148A* показал статистически значимо более высокий уровень метилирования в ПОЯ. Ранее для этого гена нами также выявлено резкое повышение метилирования при колонизации вторичных опухолей, перитонеальных макроскопических метастазов рака яичников [23]. Как известно, в процессах метастазирования наибольшее значение имеет эпителиально-мезенхимальный переход. Однако при закреплении метастатических клеток в метастатической нише может происходить обратный мезенхимально-эпителиальный переход. Эти переходы могут быть обратимы, и наибольшая пластичность отмечена при метастазировании именно рака яичников [24, 25].

В свете представленных здесь результатов важно, что в регуляции процессов обратимых эпителиально-мезенхимального – мезенхимально-эпителиального переходов и их пластичности ключевая роль отводится эпигенетическим факторам [26, 27]. При этом среди данных факторов важное значение в регуляции биологических процессов, связанных с перепрограммированием клеток опухолей яичников, могут иметь некодирующие РНК, в частности миРНК, и метилирование генов миРНК [12, 28]. С этой концепцией согласуется и открытый нами недавно эффект снижения гиперметилирования ряда генов

длинных некодирующих РНК в перитонеальных макроскопических метастазах рака яичников, что также указывает на значение aberrантного метилирования длинных некодирующих РНК как эпигенетического фактора в реверсии эпителиально-мезенхимальный – мезенхимально-эпителиальный переходы при колонизации метастазов рака яичников в брюшине [29].

Обнаруженные в данной работе гиперметилирование генов миРНК в группе ПОЯ и различия уровней метилирования генов миРНК в гистологических вариантах ЗОЯ также указывают на потенциальную регуляторную роль эпигенетических факторов в биологических процессах, определяющих перепрограммирование клеток яичников, а также на вовлеченность метилирования ряда генов миРНК в клинические проявления ПОЯ и гистологические варианты ЗОЯ.

Заключение

В данной работе впервые выявлены ассоциации метилирования генов *MIR148A* и *MIR191* со специфичными гистологическими вариантами рака яичников. Для группы генов миРНК, включая *MIR148A*, установлено повышение метилирования у больных ПОЯ в сравнении как со здоровыми женщинами, так и с больными ЗОЯ. В целом полученные результаты подтверждают регуляторную роль эпигенетических факторов в процессах формирования различных клинических фенотипов рака яичников. ©

Дополнительная информация

Финансирование

Работа выполнена за счет финансирования Российским научным фондом, грант № 20-15-00368.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов

С.С. Лукина – проведение экспериментальных исследований; А.М. Бурденный – дизайн экспериментальной части исследования, анализ результатов, написание, редактирование и утверждение итогового варианта текста; Е.А. Филиппова – статистическая обработка

данных, проведение экспериментальных исследований; И.В. Пронина – проведение экспериментальных исследований; Т.П. Казубская, Д.Н. Кушлинский и Д.О. Уткин – сбор и обработка материала; Э.А. Брага – концепция и дизайн исследования, написание, редактирование и утверждение итогового варианта текста; В.И. Логинов – анализ результатов, написание, редактирование и утверждение итогового варианта текста; Н.Е. Кушлинский – концепция статьи, анализ клинико-экспериментальных результатов исследования. Все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией, согласны нести ответственность за все аспекты работы и гарантируют, что ими надлежащим образом были рассмотрены и решены вопросы, связанные с точностью и добросовестностью всех частей работы.

Литература / References

1. Shih IM, Kurman RJ. Ovarian tumorigenesis: a proposed model based on morphological and molecular genetic analysis. *Am J Pathol.* 2004;164(5):1511–1518. doi: 10.1016/s0002-9440(10)63708-x.
2. Hauptmann S, Friedrich K, Redline R, Avril S. Ovarian borderline tumors in the 2014 WHO classification: evolving concepts and diagnostic criteria. *Virchows Arch.* 2017;470(2): 125–142. doi: 10.1007/s00428-016-2040-8.
3. Acs G. Serous and mucinous borderline (low malignant potential) tumors of the ovary. *Pathol Patterns Rev.* 2005;123(Suppl 1):S13–S57. doi: 10.1309/J6PXXK1HQAEBVPM.
4. Sun Y, Xu J, Jia X. The Diagnosis, Treatment, Prognosis and Molecular Pathology of Borderline Ovarian Tumors: Current Status and Perspectives. *Cancer Manag Res.* 2020;12:3651–3659. doi: 10.2147/CMAR.S250394.
5. Lee H, Park CS, Deftereos G, Morihara J, Stern JE, Hawes SE, Swisher E, Kiviat NB,



- Feng Q. MicroRNA expression in ovarian carcinoma and its correlation with clinicopathological features. *World J Surg Oncol*. 2012;10:174. doi: 10.1186/1477-7819-10-174.
6. Ferreira P, Roela RA, Lopez RVM, Del Pilar Estevez-Diz M. The prognostic role of microRNA in epithelial ovarian cancer: a systematic review of literature with an overall survival meta-analysis. *Oncotarget*. 2020;11(12):1085–1095. doi: 10.18632/oncotarget.27246.
 7. Prahm KP, Høgdall CK, Karlsen MA, Christensen IJ, Novotny GW, Høgdall E. MicroRNA characteristics in epithelial ovarian cancer. *PLoS One*. 2021;16(6):e0252401. doi: 10.1371/journal.pone.0252401.
 8. Chen S, Chen X, Xiu YL, Sun KX, Zhao Y. Inhibition of Ovarian Epithelial Carcinoma Tumorigenesis and Progression by microRNA 106b Mediated through the RhoC Pathway. *PLoS One*. 2015;10(5):e0125714. doi: 10.1371/journal.pone.0125714.
 9. Kim S, Choi MC, Jeong JY, Hwang S, Jung SG, Joo WD, Park H, Song SH, Lee C, Kim TH, An HJ. Serum exosomal miRNA-145 and miRNA-200c as promising biomarkers for preoperative diagnosis of ovarian carcinomas. *J Cancer*. 2019;10(9):1958–1967. doi: 10.7150/jca.30231.
 10. Piletić K, Kunej T. MicroRNA epigenetic signatures in human disease. *Arch Toxicol*. 2016;90(10):2405–2419. doi: 10.1007/s00204-016-1815-7.
 11. Брага ЭА, Логинов ВИ, Филиппова ЕА, Бурденный АМ, Пронина ИВ, Казубская ТП, Ходырев ДС, Уткин ДО, Кушлинский ДН, Адамян ЛВ, Кушлинский НЕ. Диагностическое значение группы генов микроРНК, гиперметилированных в карциноме яичников. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2018;166(8):213–217. [Braga EA, Loginov VI, Filippova EA, Burdennyi AM, Pronina IV, Kazubskaya TP, Khodyrev DS, Utkin DO, Kushlinskii DN, Adamyan LV, Kushlinskii NE. Diagnostic Value of a Group of MicroRNA Genes Hypermethylated in Ovarian Carcinoma. *Bull Exp Biol Med*. 2018;166(2):253–256. doi: 10.1007/s10517-018-4326-0.]
 12. Loginov VI, Pronina IV, Burdennyi AM, Filippova EA, Kazubskaya TP, Kushlinsky DN, Utkin DO, Khodyrev DS, Kushlinskii NE, Dmitriev AA, Braga EA. Novel miRNA genes deregulated by aberrant methylation in ovarian carcinoma are involved in metastasis. *Gene*. 2018;662:28–36. doi: 10.1016/j.gene.2018.04.005.
 13. Филиппова ЕА, Логинов ВИ, Бурденный АМ, Пронина ИВ, Казубская ТП, Кушлинский ДН, Уткин ДО, Фридман МВ, Ходырев ДС, Кушлинский НЕ, Брага ЭА. Гиперметилированные гены микроРНК в карциноме яичников: системы маркеров прогноза метастазирования. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2019;167(1):86–90. [Filippova EA, Loginov VI, Burdennyi AM, Braga EA, Pronina IV, Kazubskaya TP, Kushlinskii DN, Utkin DO, Fridman MV, Khodyrev DS, Kushlinskii NE. Hypermethylated Genes of MicroRNA in Ovarian Carcinoma: Metastasis Prediction Marker Systems. *Bull Exp Biol Med*. 2019;167(1):79–83. doi: 10.1007/s10517-019-04465-5.]
 14. Brierley JD, Gospodarowicz МК, Wittekind C, editors. *TNM Classification of Malignant Tumours*. 8th ed. John Wiley & Sons; 2017. 241 p.
 15. Филиппова ЕА, Бурденный АМ, Лукина СС, Иванова НА, Пронина ИВ, Казубская ТП, Брага ЭА, Логинов ВИ. Изменение уровня метилирования группы генов микроРНК как фактора развития и прогрессии рака молочной железы. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2021;65(3):4–11. doi: 10.25557/0031-2991.2021.03.4-11. [Filippova EA, Burdennyi AM, Lukina SS, Ivanova NA, Pronina IV, Kazubskaya TP, Braga EA, Loginov VI. [Changes in the methylation level of microRNA genes as a factor of breast cancer development and progression]. *Pathological Physiology and Experimental Therapy*. 2021;65(3):4–11. Russian. doi: 10.25557/0031-2991.2021.03.4-11.]
 16. Hattermann K, Mehdorn HM, Mentlein R, Schultka S, Held-Feindt J. A methylation-specific and SYBR-green-based quantitative polymerase chain reaction technique for O6-methylguanine DNA methyltransferase promoter methylation analysis. *Anal Biochem*. 2008;377(1):62–71. doi: 10.1016/j.ab.2008.03.014.
 17. Loginov VI, Dmitriev AA, Senchenko VN, Pronina IV, Khodyrev DS, Kudryavtseva AV, Krasnov GS, Gerashchenko GV, Chashchina LI, Kazubskaya TP, Kondratieva TT, Lerman MI, Angeloni D, Braga EA, Kashuba VI. Tumor Suppressor Function of the SEMA3B Gene in Human Lung and Renal Cancers. *PLoS One*. 2015;10(5):e0123369. doi: 10.1371/journal.pone.0123369.
 18. Panagopoulou M, Karaglani M, Balgkouranidou I, Bizioti E, Koukaki T, Karamitrous E, Nena E, Tsamardinos I, Kolios G, Lianidou E, Kakolyris S, Chatzaki E. Circulating cell-free DNA in breast cancer: size profiling, levels, and methylation patterns lead to prognostic and predictive classifiers. *Oncogene*. 2019;38(18):3387–3401. doi: 10.1038/s41388-018-0660-y.
 19. Логинов ВИ, Бурденный АМ, Пронина ИВ, Хоконова ВВ, Куревлев СВ, Казубская ТП, Кушлинский НЕ, Брага ЭА. Новые гены микроРНК, гиперметилированные при раке молочной железы. *Молекулярная биология*. 2016;50(5):797–802. doi: 10.7868/S0026898416050104. [Loginov VI, Burdennyi AM, Pronina IV, Khokonova VV, Kurevlev SV, Kazubskaya TP, Kushlinskii NE, Braga EA. Novel miRNA genes hypermethylated in breast cancer. *Molecular Biology*. 2016;50(5):705–709.]
 20. Tam KF, Liu VWS, Liu SS, Tsang PCK, Cheung ANY, Yip AMW, Ngan HYS. Methylation profile in benign, borderline and malignant ovarian tumors. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2007;133(5):331–341. doi: 10.1007/s00432-006-0178-5.
 21. Singh A, Gupta S, Sachan M. Epigenetic Biomarkers in the Management of Ovarian Cancer: Current Prospectives. *Front Cell Dev Biol*. 2019;7:182. doi: 10.3389/fcell.2019.00182.
 22. Koukoura O, Spandidos DA, Daponte A, Sifakis S. DNA methylation profiles in ovarian cancer: implication in diagnosis and therapy (Review). *Mol Med Rep*. 2014;10(1):3–9. doi: 10.3892/mmr.2014.2221.
 23. Loginov VI, Pronina IV, Filippova EA, Burdennyi AM, Lukina SS, Kazubskaya TP, Uroshlev LA, Fridman MV, Brovkinia OI, Apanovich NV, Karpukhin AV, Stilidi IS, Kushlinskii NE, Dmitriev AA, Braga EA. Aberrant Methylation of 20 miRNA Genes Specifically Involved in Various Steps of Ovarian Carcinoma Spread: From Primary Tumors to Peritoneal Macroscopic Metastases. *Int J Mol Sci*. 2022;23(3):1300. doi: 10.3390/ijms23031300.
 24. Davidson B, Tropé CG, Reich R. Epithelial-mesenchymal transition in ovarian carcinoma. *Front Oncol*. 2012;2:33. doi: 10.3389/fonc.2012.00033.
 25. Klymenko Y, Kim O, Stack MS. Complex Determinants of Epithelial: Mesenchymal Phenotypic Plasticity in Ovarian Cancer. *Cancers*. 2017;9(8):104. doi: 10.3390/cancers908104.
 26. Tam WL, Weinberg RA. The epigenetics of epithelial-mesenchymal plasticity in cancer. *Nat Med*. 2013;19(11):1438–1449. doi: 10.1038/nm.3336.
 27. Skrypek N, Goossens S, De Smedt E, Vandamme N, Bex G. Epithelial-to-Mesenchymal Transition: Epigenetic Reprogramming Driving Cellular Plasticity. *Trends Genet*. 2017;33(12):943–959. doi: 10.1016/j.tig.2017.08.004.
 28. Nguyen VHL, Yue C, Du KY, Salem M, O'Brien J, Peng C. The Role of microRNAs in Epithelial Ovarian Cancer Metastasis. *Int J Mol Sci*. 2020;21(19):7093. doi: 10.3390/ijms21197093.
 29. Бурденный АМ, Филиппова ЕА, Иванова НА, Лукина СС, Пронина ИВ, Логинов ВИ, Фридман МВ, Казубская ТП, Уткин ДО, Брага ЭА, Кушлинский НЕ. Гиперметилирование генов новых длинных некодирующих РНК в опухолях яичников и метастазах: двойственный эффект. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2021;171(3):353–358. doi: 10.47056/0365-9615-2021-171-3-353-358. [Burdennyi AM, Filippova EA, Ivanova NA, Lukina SS, Pronina IV, Loginov VI, Fridman MV, Kazubskaya TP, Utkin DO, Braga EA, Kushlinskii NE. Hypermethylation of Genes in New Long Noncoding RNA in Ovarian Tumors and Metastases: A Dual Effect. *Bull Exp Biol Med*. 2021;171(3):370–374. doi: 10.1007/s10517-021-05230-3.]



Clinical features of the microRNA genes methylation in borderline ovarian tumors and depending on the histological structure in ovarian malignancies

S.S. Lukina¹ • A.M. Burdennyi¹ • E.A. Filippova¹ • I.V. Pronina¹ • T.P. Kazubskaya² • D.N. Kushlinsky² • D.O. Utkin³ • E.A. Braga¹ • V.I. Loginov¹ • N.E. Kushlinskii²

Background: Borderline ovarian tumors (BOT) belong to the intermediate type between benign and malignant ovarian neoplasms. Serous borderline tumors share common molecular and genetic characteristics with serous carcinomas. An increase in the methylation level of microRNA (miRNA) genes group has been previously shown during the development and progression of ovarian cancer. However, the study results are contradictory, and their number is not sufficient for a consensus. Current study is the first to search for aberrant methylated genes of the BOT-specific microRNA and for some histological subtypes of ovarian cancer.

Materials and methods: The study was based on a set of 99 paired (tumor/healthy) ovarian tumor samples. Methylation analysis was carried out with quantitative methyl-specific polymerase chain reaction (PCR). Screening for BOT biomarkers was performed in 21 genes of miRNA.

Results: We have found that some miRNA genes (*MIR124-1*, *MIR125B-1*, *MIR129-2*, *MIR132*, *MIR148A*, *MIR193A*, *MIR203A*, *MIR107*, *MIR1258*, *MIR339*) were characterized by a high methylation level in the patients with BOT, compared to that in the tissues of healthy women. At the same time, the methylation level in the patients with malignant ovarian tumors (MOT) either differed slightly or was even lower. For the *MIR129-2*, *MIR132*, *MIR148A*, *MIR203*, *MIR107* and *MIR1258* genes, a higher level of methylation was detected in the BOT patients,

compared to the MOT patients. The methylation level of the *MIR148A* gene in the BOT patients was 4-fold higher than that in the MOT (31.3% vs 7.9%, $p=0.047$, multiple two-sided Kruskal-Wallis test). The methylation levels of the miRNA genes *MIR148A* and *MIR191* were significantly reduced in serous cystadenocarcinoma and increased in serous and endometrioid adenocarcinomas.

Conclusion: Methylation of the miRNA *MIR148A* and *MIR191* genes is significantly associated with various histological variants of ovarian cancer. We have shown an increased methylation level of a number of miRNA genes in BOT, compared to MOT. In general, epigenetic factors play a role in the clinical differences between histological forms of ovarian cancer and borderline tumors.

Key words: borderline ovarian tumors, malignant ovarian tumors, histological type of ovarian cancer, microRNA gene methylation, *MIR148A* gene

For citation: Lukina SS, Burdennyi AM, Filippova EA, Pronina IV, Kazubskaya TP, Kushlinsky DN, Utkin DO, Braga EA, Loginov VI, Kushlinskii NE. Clinical particulars of the microRNA genes methylation in borderline ovarian tumors and depending on the histological structure in ovarian malignancies. Almanac of Clinical Medicine. 2022;50(1):21–30. doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-001.

Received 29 October 2021; revised 10 November 2021; accepted 12 November 2021; published online 17 February 2022

Svetlana S. Lukina – Research Fellow, Laboratory of Pathogenomics and Transcriptomics¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6246-2444>. E-mail: sveta_sergeevna349@mail.ru

Alexey M. Burdennyi – PhD (in Biol.), Leading Research Fellow, Laboratory of Pathogenomics and Transcriptomics¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9398-8075>. E-mail: burdennyi@gmail.com

Elena A. Filippova – MD, PhD, Research Fellow, Laboratory of Pathogenomics and Transcriptomics¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7172-0433>. E-mail: p.lenyxa@yandex.ru

Irina V. Pronina – PhD (in Biol.), Senior Research Fellow, Laboratory of Pathogenomics and Transcriptomics¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0423-7801>. E-mail: zolly_sten@mail.ru

Tatiana P. Kazubskaya – MD, PhD, Oncogeneticist, Senior Research Fellow, Laboratory of Clinical Oncogenetics²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5856-0017>. E-mail: oncogen5@ronc.ru

Dmitry N. Kushlinsky – Oncologist, Laboratory of Clinical Biochemistry and Laboratorial Diagnostics². E-mail: biochimia@yandex.ru

Dmitriy O. Utkin – Surgeon, Department of Gynaecological Oncology³. E-mail: burdennyi@gmail.com

Eleonora A. Braga – Doctor of Biol. Sci., Professor, Chief Research Fellow, Head of Laboratory of Pathogenomics and Transcriptomics¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5188-4094>. ✉ 8 Baltiyskaya ul., Moscow, 125315, Russian Federation. Tel.: +7 (917) 545 43 93. E-mail: eleonora10_45@mail.ru

Vitaly I. Loginov – PhD (in Biol.), Leading Research Fellow, Laboratory of Pathogenomics and Transcriptomics¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2668-8096>. E-mail: loginov7w@gmail.com

Nikolay E. Kushlinskii – MD, PhD, Professor, Member of Russ. Acad. Sci., Head of Laboratory of Clinical Biochemistry and Laboratorial Diagnostics²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3898-4127>. E-mail: biochimia@yandex.ru

Funding

The study was financed from the Russian Science Foundation, grant # 20-15-00368.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interests as per this article.

Authors' contributions

S.S. Lukina, the experimental part of the study; A.M. Burdennyi, design of experimental part of the study, analysis of the results, text writing, text editing, approval of the final version of the manuscript; E.A. Filippova, statistical analysis, experimental part of the study; I.V. Pronina, the experimental part of the study; T.P. Kazubskaya, D.N. Kushlinsky and D.O. Utkin, data collection and management; E.A. Braga, the study concept and design, text writing, text editing, approval of the final version of the manuscript; V.I. Loginov, analysis of the results, text writing, text editing, approval of the final version of the manuscript; N.E. Kushlinskii, concept of the paper, analysis of the clinical and experimental results. All the authors have read and approved the final version of the manuscript before submission, agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

¹Institute of General Pathology and Pathophysiology; 8 Baltiyskaya ul., Moscow, 125315, Russian Federation

²N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology; 23 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation

³Moscow Municipal Oncological Hospital No. 62; 27 Istra poselok, Krasnogorskiy rayon, 143423, Russian Federation



Оригинальная статья

Прогностическая значимость актин-связывающих белков фасцина и эзрина у больных плоскоклеточным раком головы и шеи

Кондакова И.В.¹ • Какурина Г.В.¹ • Колегова Е.С.¹ • Черемисина О.В.¹ • Коршунов Д.А.¹ • Бахронов И.А.¹ • Чойнзонов Е.Л.^{1,2}

Кондакова Ирина Викторовна – д-р мед. наук, профессор, заведующая лабораторией биохимии опухолей Научно-исследовательского института онкологии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0947-8778>

✉ 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, Российская Федерация. Тел.: +7 (3822) 28 26 97; +7 (906) 950 63 45. E-mail: kondakova@oncology.tomsk.ru

Какурина Гелена Валериевна – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаборатории биохимии опухолей Научно-исследовательского института онкологии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4506-9429>. E-mail: kakurinagv@oncology.tomsk.ru

Колегова Елена Сергеевна – канд. мед. наук, науч. сотр. лаборатории биологии опухолевой прогрессии Научно-исследовательского института онкологии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9122-3274>

Черемисина Ольга Владимировна – д-р мед. наук, заведующая отделением эндоскопии Научно-исследовательского института онкологии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7234-4708>

Коршунов Дмитрий Афанасьевич – канд. мед. наук, науч. сотр. лаборатории биохимии опухолей Научно-исследовательского института онкологии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1058-3882>. E-mail: ieved@yandex.ru

Бахронов Ислон Аслидинович – аспирант отделения опухолей головы и шеи Научно-исследовательского института онкологии¹. E-mail: islom.fighter101@gmail.com

Чойнзонов Евгений Лхамцыренович – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, заведующий отделением опухолей головы и шеи, директор Научно-исследовательского института онкологии¹, заведующий кафедрой онкологии²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3651-0665>. E-mail: choynzonov@gmail.com

Актуальность. В процессе неопластической трансформации эпителиальные клетки становятся подвижными, что служит одним из основных механизмов метастазирования и рецидивирования. Клеточная подвижность регулируется актин-связывающими белками, осуществляющими ассоциацию/диссоциацию актиновых филаментов между собой и с клеточной мембраной. Ранее нами показано присутствие актин-связывающих белков в сыворотке крови больных плоскоклеточным раком головы и шеи (ПРГШ), однако недостаточно исследована их связь с развитием метастазов и рецидивов у онкологических больных.

Цель – исследовать уровень актин-связывающих белков фасцина-1 и эзрина в сыворотке крови больных ПРГШ в зависимости от рецидивирования и лимфогенного метастазирования. **Материал и методы.** У 30 пациентов с ПРГШ (T1-4N0-2M0), средний возраст 56 ± 7 лет, методом иммуноферментного анализа определяли уровни фасцина-1 и эзрина в сыворотке крови до комбинированного лечения.

Результаты. Медианный уровень фасцина-1 был статистически значимо выше в сыворотке пациентов с лимфогенными метастазами по сравнению с больными без метастазов: 0,64 (0,40; 5,89) и 6,35 (1,72; 8,35) нг/мл соответственно ($p < 0,001$). В период от 12 до 36 месяцев после комбинированного лечения рецидив опухоли развился у 12 (40%) больных. Уровень эзрина был статистически значимо

выше в группе больных с рецидивированием по сравнению с больными ПРГШ, у которых рецидивы не развились в течение 3 лет после комбинированного лечения: 2,55 (2,35; 2,75) против 1,93 (1,87; 2,5) нг/мл ($p = 0,02$). По данным ROC-анализа выявлена связь содержания фасцина-1 в сыворотке крови с процессом метастазирования (AUC=0,71, 95% доверительный интервал 0,57–0,85) и связь содержания эзрина с развитием рецидивов (AUC=0,76, 95% доверительный интервал 0,57–0,94).

Заключение. Полученные показатели могут быть использованы для разработки малоинвазивных способов раннего обнаружения метастазов в лимфатических узлах и для прогноза рецидивирования ПРГШ.

Ключевые слова: плоскоклеточный рак головы и шеи, рецидивирование, лимфогенное метастазирование, прогноз, актин-связывающие белки, фасцин, эзрин

Для цитирования: Кондакова ИВ, Какурина ГВ, Колегова ЕС, Черемисина ОВ, Коршунов ДА, Бахронов ИА, Чойнзонов ЕЛ. Прогностическая значимость актин-связывающих белков фасцина и эзрина у больных плоскоклеточным раком головы и шеи. Альманах клинической медицины. 2022;50(1):31–37. doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-006.

Поступила 26.11.2021; доработана 10.03.2022; принята к публикации 14.03.2022; опубликована онлайн 21.03.2022

¹ ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, Российская Федерация

² ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; 634050, г. Томск, Московский тракт, 2, Российская Федерация



Плоскоклеточный рак органов головы и шеи (ПРГШ) – актуальная и сложная проблема современной онкологии. В структуре общей заболеваемости он составляет 20% [1]. Ежегодно в мире появляется около 600 тыс. новых больных раком головы и шеи, а 5-летняя выживаемость варьирует в пределах 40–50% [2]. В Российской Федерации заболеваемость остается высокой и составляет 35 тыс. первичных больных ежегодно [3]. ПРГШ включает опухоли, развившиеся из плоского эпителия полости рта, глотки и гортани. Ввиду скрытого клинического течения, сложности анатомо-топографического строения, инфильтративного характера роста, раннего вовлечения в опухолевый процесс лимфоузлов, трудности диагностики и позднего обращения пациентов результаты лечения не всегда удовлетворительны. Часто диагностируются запущенные формы рака, выживаемость среди таких пациентов составляет около 40% [4]. Основной причиной летальности при ПРГШ выступают местные рецидивы и метастазы в лимфатические узлы шеи [5]. Общая частота метастатического поражения шейных лимфатических узлов достигает 60% [6]. Существует острая потребность в молекулярных маркерах, которые помогут прогнозировать развитие метастазов и рецидивов, обеспечить более эффективное и специфическое лечение ПРГШ, повысить выживаемость [7].

Молекулярные исследования показали, что ПРГШ имеет высокую степень генетической гетерогенности, что приводит к мутациям, связанным с потерей функции в генах-супрессорах опухолей, таких как p53 и p16INK4a, а также активации онкогенов, таких как рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) 4 и PIK3CA5 [8]. Установлена прогностическая значимость протеаз в отношении развития лимфогенных метастазов [9]. Протеомные исследования сыворотки крови выявили, что некоторые актин-связывающие белки могут быть определены в сыворотке крови больных ПРГШ [10]. Актин-связывающие белки регулируют перестройку цитоскелета во время эпителиально-мезенхимального перехода, обеспечивая подвижность клеток, что служит причиной появления циркулирующих опухолевых клеток, ответственных за развитие метастазов и рецидивов [11]. Ранее нами было показано присутствие актин-связывающих белков, в частности, эзрина и фасцина, в сыворотке крови больных ПРГШ [12].

Известно, что эзрин способствует метастазированию опухоли, однако молекулярные

механизмы этого пока не определены. Эзрин избыточно экспрессируется в ткани рака языка, может играть важную роль в миграции и инвазии и, таким образом, служить терапевтической мишенью при плоскоклеточных карциномах языка [13]. Определение уровня сывороточного эзрина предлагается в качестве маркера ранней диагностики при плоскоклеточном раке пищевода [14].

В процессе локомоции клеток ПРГШ важная роль принадлежит актин-связывающему белку фасцину, который вовлечен в формирование пучков актина [15]. Ингибирование фасцина-1 в клетках ПРГШ снижало миграцию и инвазию клеток карциномы *in vitro* и уменьшало метастазирование *in vivo*, а экспрессия этого показателя в инвазивном фронте опухолей была связана с опухолеспецифической смертностью на поздних стадиях [16]. Несмотря на то что экспрессия генов и уровень фасцина и эзрина в тканях активно исследуются, большой интерес представляют данные, полученные в результате изучения этих белков в сыворотке крови онкологических больных, так как это позволит разработать малоинвазивные способы прогнозирования метастазирования и рецидивирования заболевания.

Цель исследования – изучить уровни актин-связывающих белков фасцина-1 и эзрина в сыворотке крови больных ПРГШ в зависимости от рецидивирования и метастазирования.

Материал и методы

В исследование вошли 30 пациентов с ПРГШ (T1-4N0-2M0), поступивших на лечение в отделение опухолей головы и шеи НИИ онкологии Томского НИМЦ. Средний возраст пациентов составил 56 ± 7 лет. Диагноз был гистологически верифицирован, во всех случаях опухоли имели гистологическое строение плоскоклеточной карциномы разной степени дифференцировки. До проводимого исследования пациенты не получали специального лечения. В дальнейшем больным проводилось комбинированное лечение, которое заключалось в выполнении хирургического вмешательства на первичном опухолевом очаге и регионарном лимфатическом аппарате шеи (по показаниям) с пред- или послеоперационным курсом лучевой терапии или химиотерапией. Группу контроля составили 12 здоровых доноров, не имеющих хронических заболеваний верхних дыхательных путей в стадии обострения, их средний возраст был 47 ± 9 лет.

Работа проведена в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принци-



пы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава России от 19.06.2003 № 266. Всеми пациентами было дано информированное согласие на проведение исследования.

Сыворотку крови больных и здоровых доноров получали для исследований в соответствии со стандартным протоколом и хранили при -80°C . Определение фасцина и эзрина в сыворотке крови проводили иммуноферментным методом на микропланшетном ридере Multiskan FC 100 (ThermoFisher Scientific) с помощью наборов ELISA Kit for Fascin (FSCN1) (Cloud-Clone Corp.) и ELISA Kit for Cytovillin (CVL; Ezrin) (Cloud-Clone Corp.). Уровни фасцина и эзрина в сыворотке крови оценивали до начала комбинированного лечения.

Статистическую обработку результатов осуществляли с применением пакета программ Statistica 8.0 (StatSoft, Россия) и IBM SPSS Statistics 22.0. После проверки количественных показателей на нормальность распределения с помощью критерия Колмогорова – Смирнова использовался непараметрический критерий Манна – Уитни (U-test) для сравнения различий двух групп. Для количественных признаков рассчитывали медиану с интерквартильным размахом и выражали в таблицах как Me [Q25%; Q75%], где n – количество человек. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Чувствительность, специфичность и прогностическую значимость кандидатных маркеров определяли методом ROC-анализа (англ. receiver operating characteristic) по правилу расчета площадей под кривыми AUC (англ. area under curve) и указывали 95% доверительный интервал (95% ДИ). По результатам ROC-анализа выбирали точку отсечения (cut-off) исходя из оптимального соотношения «чувствительность/специфичность».

Результаты

На рис. 1 приведены данные по содержанию актин-связывающих белков фасцина-1 и эзрина в сыворотке крови у больных ПРГШ по сравнению со здоровыми донорами. Значимых различий в уровнях изучаемых белков не наблюдалось, что связано, вероятно, с большим разбросом данных в группе пациентов с ПРГШ.

Изучение уровней актин-связывающих белков в сыворотке крови больных ПРГШ в зависимости от лимфогенного метастазирования

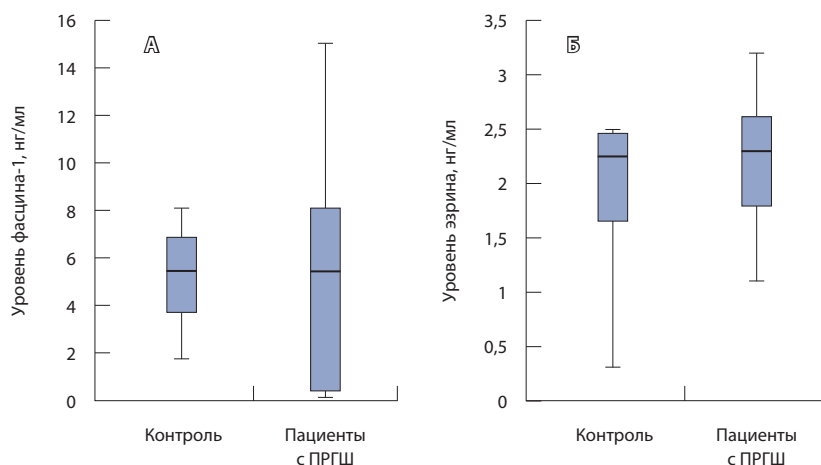


Рис. 1. Уровень фасцина-1 (А) и эзрина (Б) в сыворотке крови в группах больных плоскоклеточным раком области головы и шеи (ПРГШ) и контрольной группы

Таблица 1. Уровень фасцина-1 и эзрина в сыворотке крови больных плоскоклеточным раком области головы и шеи до лечения в зависимости от лимфогенного метастазирования, Me (Q25%; Q75%)

| Показатель, нг/мл | T2-3N0-M0 (n=21) | T2-3N1-2M0 (n=9) | Значение p |
|-------------------|-------------------|-------------------|------------|
| Фасцин-1 | 0,64 (0,40; 1,89) | 6,35 (1,72; 8,35) | 0,001 |
| Эзрин | 1,93 (1,6; 2,6) | 2,20 (1,55; 2,60) | 0,86 |

показало, что уровень фасцина-1 был статистически значимо выше в группе больных с метастазами по сравнению с пациентами без метастазов (табл. 1).

На следующем этапе работы было проведено исследование зависимости уровней исследуемых показателей в сыворотке крови от рецидивирования в течение 3 лет после комбинированного лечения больных ПРГШ. В представленной выборке пациентов прогрессирование опухолевого процесса наблюдалось у 12 (40%) больных за счет развития рецидивов опухоли в период от 12 до 36 месяцев. Уровень эзрина был статистически значимо выше в группе больных ПРГШ с рецидивированием по сравнению с больными, у которых рецидивы не развились (табл. 2). Это позволяет говорить о существовании зависимости развития рецидивов от уровня эзрина, определяемого в сыворотке крови до начала лечебных процедур.

Результаты ROC-анализа, с помощью которого рассчитывали перспективность определения уровней фасцина-1 и эзрина в сыворотке крови для различения больных с метастазами и без них, а также больных с высоким и низким риском развития рецидивов, отражены на рис. 2.

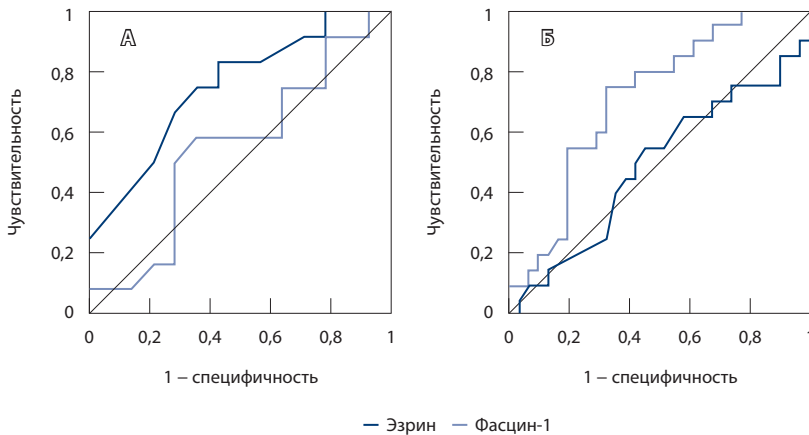


Рис. 2. ROC-анализ факторов прогноза рецидивирования (А) и лимфогенного метастазирования (Б) у больных плоскоклеточным раком области головы и шеи

Таблица 2. Уровень фасцина-1 и эзрина в сыворотке крови больных плоскоклеточным раком области головы и шеи в зависимости от развития рецидивов после комбинированного лечения, Me (Q25%; Q75%)

| Показатель, нг/мл | R1 (n = 12) | R0 (n = 18) | Значение <i>p</i> |
|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Фасцин-1 | 6,05 (0,52; 7,50) | 1,18 (0,46; 7,08) | 0,45 |
| Эзрин | 2,55 (2,35; 2,75) | 1,93 (1,87; 2,5) | 0,02 |

R1 – рецидив есть, R0 – рецидива нет

При изучении прогностической значимости белков в отношении рецидивирования выявлено, что для эзрина AUC равна 0,76 с 95% ДИ 0,57–0,94. Это позволяет классифицировать эзрин как удовлетворительный предиктор появления рецидивов в течение 3 лет у больных ПРГШ. Чувствительность прогноза составляет 75%, специфичность 70% при пороговом значении уровня эзрина (cut-off) более 2,10 нг/мл. Для фасцина-1 AUC была 0,55 с 95% ДИ 0,32–0,77, что говорит об отсутствии предсказательной значимости фасцина-1 в отношении развития рецидивов в течение 3 лет у больных ПРГШ в представленной выборке. Таким образом, рецидивы чаще выявлялись среди больных, в сыворотке крови которых уровень эзрина был выше 2,10 нг/мл. В случае развития лимфогенных метастазов для фасцина-1 AUC была равна 0,71 с 95% ДИ 0,57–0,85, что позволяет отнести его к удовлетворительным признакам лимфогенного метастазирования у больных ПРГШ. Чувствительность составила 75%, специфичность – 62% с пороговым значением (cut-off) для уровня фасцина-1 в сыворотке крови более 1,18 нг/мл. Для эзрина AUC = 0,49 с 95% ДИ 0,32–0,66, следовательно, он не связан с лимфогенным метастазированием.

Обсуждение

Поиск маркеров прогноза развития метастазов и рецидивов ПРГШ – одно из важных направлений молекулярной онкологии, так как основной причиной летальности при данной патологии становятся местные рецидивы и метастазы в лимфатические узлы. Общепринятым и основным критерием прогноза, который определяет тактику лечения больных, служит распространенность опухолевого процесса, однако эффективность лечения и исход заболевания далеко не всегда связаны с этим критерием [3]. Наличие метастазов в лимфатических узлах считается одним из неблагоприятных прогностических факторов у больных ПРГШ, сокращающим 5-летнюю выживаемость пациентов вдвое. В то же время известно, что около 25% пациентов имеют скрытые метастазы в лимфатические узлы [2]. Именно поэтому представляется невозможным использование клинико-морфологических прогностических факторов на ранних стадиях опухолевого процесса и при скрытых метастазах в лимфатические узлы, которые не определяются клинически [2]. Раннее обнаружение лимфогенных метастазов – необходимое условие планирования адекватного объема лечения онкологических больных. В связи с этим актуален поиск дополнительных молекулярных прогностических критериев, которые могли бы объективно отражать состояние опухолевой прогрессии и определять прогноз развития заболевания. Современные достижения молекулярной онкологии наряду с пониманием фундаментальных основ опухолевой прогрессии способствовали развитию практических приложений, связанных, в частности, с идентификацией белковых маркеров в сыворотке крови.

К числу показателей, которые могут служить перспективными маркерами метастазирования и рецидивирования ПРГШ, относятся актин-связывающие белки. В литературе представлены весьма скудные данные о возможности присутствия актин-связывающих белков в сыворотке крови. Известно, что к циркулирующим маркерам относится фасцин, который был обнаружен в интерстициальной жидкости опухолевого микроокружения пациентов с ПРГШ [17], и показано увеличение его содержания в сыворотке крови при раке легкого по сравнению со здоровыми донорами [18]. Ранее нами было подтверждено присутствие фасцина-1 в сыворотке крови больных ПРГШ [12].

В настоящей работе показана связь сывороточного уровня фасцина-1 с развитием лимфогенных метастазов у больных ПРГШ. Изучение



механизмов участия фасцина в опухолевом росте выявило, что белок специфически взаимодействует с F-актином с образованием параллельных пучков актина и участвует в регуляции клеточной адгезии, межклеточных взаимодействий и миграции [15]. Обнаружено увеличение экспрессии фасцина-1 в различных эпителиальных новообразованиях, включая ПРГШ. Кроме того, сверхэкспрессия фасцина-1 в ткани ПРГШ связана с инвазией и метастазированием рака [15, 19]. Ингибирование фасцина-1 микроРНК miR-145-5p, которая выполняет роль супрессора опухолей, снижало прогрессирование рака гортани [20]. Обнаруженная нами связь содержания фасцина-1 в сыворотке крови с процессом метастазирования позволяет утверждать, что формирование метастатического ПРГШ сопряжено с повышением уровня фасцина в сыворотке крови. Этот показатель можно рассматривать в качестве кандидатного маркера для прогноза метастазирования рака вышеуказанной локализации и для раннего обнаружения лимфогенных метастазов. Определение этого показателя позволит выделить группы больных с высокой вероятностью возникновения лимфогенного метастазирования, оптимизировать сроки динамического наблюдения больных и в случае прогрессирования заболевания принять своевременные лечебные меры.

Оценка частоты появления рецидивов у данной категории пациентов в течение 3 лет после комбинированного лечения выявила, что прогрессирование опухолевого процесса у 40% больных было отмечено за счет развития именно рецидивов опухоли. Изучение сывороточного уровня актин-связывающих белков показало наличие эзрина. Нами получены данные о связи сывороточного уровня эзрина с развитием рецидивов у больных ПРГШ. Прогностическая ценность уровня актин-связывающих белков в сыворотке крови в отношении появления рецидивов у больных ПРГШ была определена с помощью ROC-анализа, результаты которого обозначили

перспективы использования этого показателя для прогноза рецидивирования. Представленные результаты согласуются с данными литературы, указывающими на снижение безрецидивной выживаемости у больных с высоким содержанием эзрина в клетках ПРГШ [21]. Установлено, что эзрин вносит существенный вклад в развитие опухолевой прогрессии плоскоклеточного рака гортани и выступает фактором прогноза рака этой локализации [22]. Эзрин, будучи членом семейства белков «эзрин – радиксин – моэзин» (ERM), которое относится к белкам, связанным с цитоскелетом и клеточной мембраной, играет роль в ремоделировании нитей актина и межклеточной адгезии [13]. Сверхэкспрессия эзрина в тканях опухолей ассоциируется с инвазией и метастазами ПРГШ [14]. Таким образом, не только тканевая экспрессия эзрина может служить фактором прогноза течения заболевания, но и уровень этого белка в сыворотке крови может быть дополнительным фактором, позволяющим выявлять рецидивы ПРГШ. Полученные нами результаты позволяют глубже понять механизмы опухолевой прогрессии на системном уровне и разработать новые подходы к прогнозированию метастазирования и рецидивирования ПРГШ.

Заключение

У пациентов с ПРГШ выявлено повышение уровня фасцина-1 в сыворотке крови при лимфогенном метастазировании и повышение уровня эзрина в связи с рецидивированием опухолевого процесса. В совокупности наши данные показывают, что эзрин и фасцин-1 в сыворотке крови связаны с прогрессированием ПРГШ. Результаты, представленные в данной работе, создают фундаментальную базу для разработки малоинвазивных способов прогнозирования развития рецидивов и раннего обнаружения метастазов и обуславливают необходимость дальнейших исследований роли актин-связывающих белков в опухолевой прогрессии. ©

Дополнительная информация

Финансирование

Работа выполнена в рамках Госзадания НИИ онкологии Томского НИМЦ на 2022 г.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов

И.В. Кондакова – разработка дизайна исследования, анализ результатов, анализ научной работы, написание текста; Г.В. Какурина – исследование показателей в сыворотке крови методом

иммуноферментного анализа; Е.С. Колегова – статистическая обработка материала; О.В. Черемисина – проведение комплексного обследования, формирование групп пациентов; Д.А. Коршунов – обработка материала, составление базы данных; И.А. Бахронов – набор клинического материала; Е.Л. Чойнзонов – разработка концепции научной работы, утверждение итогового варианта текста рукописи. Все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией, согласны нести ответственность за все аспекты работы и гарантируют, что ими надлежащим образом были рассмотрены и решены вопросы, связанные с точностью и добросовестностью всех частей работы.



Литература / References

- Каприн АД, Старинский ВВ, Шахзадова АО, ред. Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена–филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; 2020. 252 с. [Kaprin AD, Starinskiy VV, Shahzadova AO, editors. Malignant neoplasms in Russia in 2019 (morbidity and mortality). Moscow: MNIIOI named after P.A. Herzen – branch of the FSBI "National Medical Research Center of Radiology" of the Ministry of Health of Russia; 2020. 252 p. Russian.]
- Marur S, Forastiere AA. Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: Update on Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. *Mayo Clin Proc.* 2016;91(3):386–396. doi: 10.1016/j.mayocp.2015.12.017.
- Чойнзонов ЕЛ, Кондакова ИВ, Спирина ЛВ, Лебедев ИН, Гольдберг ВЕ, Чижевская СЮ, Шишкин ДА, Уразова ЛН, Какурина ГВ, Бычков ВА, Хричкова ТЮ, Мельников АА. Плоскоклеточный рак головы и шеи: молекулярные основы патогенеза. Москва: Наука; 2016. 224 с. [Choinzonov EL, Kondakova IV, Spirina LV, Lebedev IN, Goldberg VE, Chizhevskaya SYu, Shishkin DA, Urazova LN, Kakurina GV, Bychkov VA, Khrichkova TYu, Melnikov AA. Squamous cell head and neck carcinoma: molecular bases of pathogenesis. Moscow: Nauka; 2016. 224 p. Russian.]
- Simard EP, Torre LA, Jemal A. International trends in head and neck cancer incidence rates: differences by country, sex and anatomic site. *Oral Oncol.* 2014;50(5):387–403. doi: 10.1016/j.oraloncology.2014.01.016.
- Vasan K, Low TH, Gupta R, Ashford B, Asher R, Gao K, Ch'ng S, Palme CE, Clark JR. Lymph node ratio as a prognostic factor in metastatic cutaneous head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck.* 2018;40(5):993–999. doi: 10.1002/hed.25066.
- Sacco AG, Cohen EE. Current Treatment Options for Recurrent or Metastatic Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *J Clin Oncol.* 2015;33(29):3305–3313. doi: 10.1200/JCO.2015.62.0963.
- Какурина ГВ, Кондакова ИВ, Чойнзонов ЕЛ. Прогнозирование метастазирования плоскоклеточных карцином головы и шеи. *Вопросы онкологии.* 2012;58(1):26–32. [Kakurina GV, Kondakova IV, Choinzonov EL. Prognosis of metastasis of squamous cell carcinomas of the head and neck. *Problems in Oncology.* 2012;58(1):26–32. Russian.]
- Alsahafi E, Begg K, Amelio I, Raulf N, Lucarelli P, Sauter T, Tavassoli M. Clinical update on head and neck cancer: molecular biology and ongoing challenges. *Cell Death Dis.* 2019;10(8):540. doi: 10.1038/s41419-019-1769-9.
- Спирина ЛВ, Кондакова ИВ, Чойнзонов ЕЛ, Шарова НП, Чижевская СЮ, Шишкин ДА. Активность и субъединичный состав протеасом в плоскоклеточных карциномах головы и шеи. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2010;149(1):89–92. [Spirina LV, Kondakova IV, Choinzonov EL, Sharova NP, Chigevskay SY, Shishkin DA. Activity and subunit composition of proteasomes in head and cervical squamous cell carcinomas. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2010;149(1):89–92. Russian.]
- Какурина ГВ, Кондакова ИВ, Чойнзонов ЕЛ, Шишкин ДА, Черемисина ОВ. Особенности протеома сыворотки крови больных плоскоклеточными карциномами головы и шеи. *Сибирский онкологический журнал.* 2013;(2):62–66. [Kakurina GV, Kondakova IV, Choinzonov EL, Shishkin DA, Cheremisina OV. Assessment of blood serum proteome in patients with squamous cell head and neck carcinoma. *Siberian Journal of Oncology.* 2013;(2):62–66. Russian.]
- Tada H, Takahashi H, Ida S, Nagata Y, Chikamatsu K. Epithelial-Mesenchymal Transition Status of Circulating Tumor Cells Is Associated With Tumor Relapse in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Anticancer Res.* 2020;40(6):3559–3564. doi: 10.21873/anticancer.14345.
- Какурина ГВ, Шашова ЕЕ, Черемисина ОВ, Чойнзонов ЕЛ, Кондакова ИВ. Циркулирующие актин-связывающие белки при прогрессировании рака гортани и гортаноглотки. *Сибирский онкологический журнал.* 2020;19(4):88–93. doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-88-93. [Kakurina GV, Shashova EE, Cheremisina OV, Choinzonov EL, Kondakova IV. Circulating actin-binding proteins in progression of laryngeal and hypopharyngeal cancers. *Siberian Journal of Oncology.* 2020;19(4):88–93. Russian. doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-88-93.]
- Saito S, Yamamoto H, Mukaisho K, Sato S, Higo T, Hattori T, Yamamoto G, Sugihara H. Mechanisms underlying cancer progression caused by ezrin overexpression in tongue squamous cell carcinoma. *PLoS One.* 2013;8(1):e54881. doi: 10.1371/journal.pone.0054881.
- Li L, Liu M, Lin JB, Hong XB, Chen WX, Guo H, Xu LY, Xu YW, Li EM, Peng YH. Diagnostic Value of Autoantibodies against Ezrin in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Dis Markers.* 2017;2017:2534648. doi: 10.1155/2017/2534648.
- Bu M, Liu X, Liu X, Xu W. Upregulation of fascin-1 is involved in HIF-1 α -dependent invasion and migration of hypopharyngeal squamous cell carcinoma. *Int J Oncol.* 2019;55(2):488–498. doi: 10.3892/ijo.2019.4827.
- Wahab A, Hyytiäinen A, Wahbi W, Tuomainen K, Tervo S, Conesa-Zamora P, Jauhiainen L, Mäkinen LK, Paaonon T, Toppila-Salmi S, Saleem A, Almagush A, Salo T, Al-Samadi A. The effect of fascin 1 inhibition on head and neck squamous cell carcinoma cells. *Eur J Oral Sci.* 2021;129(6):e12819. doi: 10.1111/eos.12819.
- Lee LY, Chen YJ, Lu YC, Liao CT, Chen IH, Chang JT, Huang YC, Chen WH, Huang CC, Tsai CY, Cheng AJ. Fascin is a circulating tumor marker for head and neck cancer as determined by a proteomic analysis of interstitial fluid from the tumor microenvironment. *Clin Chem Lab Med.* 2015;53(10):1631–1641. doi: 10.1515/cclm-2014-1016.
- Teng Y, Xu S, Yue W, Ma L, Zhang L, Zhao X, Guo Y, Zhang C, Gu M, Wang Y. Serological investigation of the clinical significance of fascin in non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer.* 2013;82(2):346–352. doi: 10.1016/j.lungcan.2013.08.017.
- Papaspyrou K, Brochhausen C, Schmidtman I, Fruth K, Gouveris H, Kirckpatrick J, Mann W, Brieger J. Fascin upregulation in primary head and neck squamous cell carcinoma is associated with lymphatic metastasis. *Oncol Lett.* 2014;7(6):2041–2046. doi: 10.3892/ol.2014.2007.
- Gao W, Zhang C, Li W, Li H, Sang J, Zhao Q, Bo Y, Luo H, Zheng X, Lu Y, Shi Y, Yang D, Zhang R, Li Z, Cui J, Zhang Y, Niu M, Li J, Wu Z, Guo H, Xiang C, Wang J, Hou J, Zhang L, Thorne RF, Cui Y, Wu Y, Wen S, Wang B. Promoter Methylation-Regulated miR-145-5p Inhibits Laryngeal Squamous Cell Carcinoma Progression by Targeting FSCN1. *Mol Ther.* 2019;27(2):365–379. doi: 10.1016/j.jymthe.2018.09.018.
- Schlecht NF, Brandwein-Gensler M, Smith RV, Kawachi N, Broughel D, Lin J, Keller CE, Reynolds PA, Gunn-Moore FJ, Harris T, Childs G, Belbin TJ, Prystowsky MB. Cytoplasmic ezrin and moesin correlate with poor survival in head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck Pathol.* 2012;6(2):232–43. doi: 10.1007/s12105-011-0328-1.
- Gao W, Zhang C, Feng Y, Chen G, Wen S, Huangfu H, Wang B. Fascin-1, ezrin and paxillin contribute to the malignant progression and are predictors of clinical prognosis in laryngeal squamous cell carcinoma. *PLoS One.* 2012;7(11):e50710. doi: 10.1371/journal.pone.0050710.



The prognostic value of actin-binding proteins fascin and ezrin in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck

I.V. Kondakova¹ • G.V. Kakurina¹ • E.S. Kolegova¹ •
O.V. Cheremisina¹ • D.A. Korshunov¹ • I.A. Bakhronov¹ •
E.L. Choinzonov^{1,2}

Rationale: During neoplastic transformation, epithelial cells become mobile, which is one of the main mechanisms of metastatic disease and recurrence. Cell motility is regulated by actin-binding proteins, which ensure the association/dissociation of actin filaments and their interaction with the cell membrane. Previously, we have shown the presence of actin-binding proteins in the serum from patients with squamous cell carcinoma of the head and neck (HNSCC); however, their association with the development of metastases and relapses in cancer patients has not been sufficiently studied.

Aim: To evaluate the serum levels of actin-binding proteins fascin-1 and ezrin in patients with HNSCC depending on the disease recurrence and lymphatic metastasis.

Materials and methods: Serum fascin-1 and ezrin levels before combination therapy were measured with ELISA assay in 30 HNSCC (T1-4N0-2M0) patients (mean age 56 ± 7 years).

Results: The median fascin-1 level was significantly higher in the patients with lymphatic metastases, compared to those without metastases: 0.64 (0.40; 5.89) vs 6.35 (1.72; 8.35) ng/mL, respectively ($p < 0.001$). At 12 to 36 months after combination therapy, the disease relapsed in 12 (40%) patients. Ezrin levels were significantly higher in

the relapsed patients, compared to those without a relapse within 3 years after combination therapy: 2.55 (2.35; 2.75) vs 1.93 (1.87; 2.5) ng/mL ($p = 0.02$). The ROC analysis showed an association between fascin-1 serum levels with metastatic disease (AUC = 0.71, 95% confidence interval 0.57–0.85) and an association between ezrin levels and the disease relapse (AUC = 0.76, 95% confidence interval 0.57–0.94).

Conclusion: These indicators can be used for the development of minimally invasive early detection of metastases in lymphatic nodes and for the prognosis of HNSCC recurrence.

Key words: squamous cell carcinoma of the head and neck, recurrence, lymphatic metastasis, prognosis, actin-binding proteins, fascin, ezrin

For citation: Kondakova IV, Kakurina GV, Kolegova ES, Cheremisina OV, Korshunov DA, Bakhronov IA, Choinzonov EL. The prognostic value of actin-binding proteins fascin and ezrin in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *Almanac of Clinical Medicine*. 2022;50(1):31–37. doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-006.

Received 26 November 2021; revised 10 March 2022; accepted 14 March 2022; published online 21 March 2022

Funding

The study was performed as a part of the State project of the Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, for 2022.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interests as per this article.

Authors' contributions

I.V. Kondakova, design of the study, analysis of the results, analysis of the study, text writing; G.V. Kakurina, evaluating of indicators in serum with ELISA assay; E.S. Kolegova, statistical analysis; O.V. Cheremisina, complete medical examination practice, patient groups recruitment; D.A. Korshunov, data management, creating a database; I.A. Bakhronov, clinical data collection; E.L. Choinzonov, the study concept, approval of the final version of the manuscript. All the authors have read and approved the final version of the manuscript before submission, agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Irina V. Kondakova – MD, PhD, Professor, Head of Laboratory of Tumor Biochemistry, Cancer Research Institute¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0947-8778>

✉ 5 Kooperativnyy per., Tomsk, 634009, Russian Federation. Tel.: +7 (3822) 28 26 97; +7 (906) 950 63 45. E-mail: kondakova@oncology.tomsk.ru

Gelena V. Kakurina – MD, PhD, Senior Research Fellow, Laboratory of Tumor Biochemistry, Cancer Research Institute¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4506-9429>. E-mail: kakurinagv@oncology.tomsk.ru

Elena S. Kolegova – MD, PhD, Research Fellow, Laboratory of Biology of Tumor Progression, Cancer Research Institute¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9122-3274>

Olga V. Cheremisina – MD, PhD, Head of Department of Endoscopy, Cancer Research Institute¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7234-4708>

Dmitriy A. Korshunov – MD, PhD, Research Fellow, Laboratory of Tumor Biochemistry, Cancer Research Institute¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1058-3882>. E-mail: ieved@yandex.ru

Islom A. Bakhronov – Postgraduate Student, Department of Head and Neck Tumors, Cancer Research Institute¹. E-mail: islom.fighter101@gmail.com

Evgeny L. Choinzonov – MD, PhD, Professor, Member of Russ. Acad. Sci., Head of Department of Head and Neck Tumors, Director of Cancer Research Institute¹; Head of Chair of Oncology²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3651-0665>. E-mail: choynzonov@gmail.com

¹ Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences; 5 Kooperativnyy per., Tomsk, 634009, Russian Federation

² Siberian State Medical University; 2 Moskovskiy trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation



Оригинальная статья

Особенности метаболизма стероидов по данным газовой хромато-масс-спектрометрии у больных аденокортикальным раком и с инциденталомой надпочечников при врожденной дисфункции коры надпочечников

Шафигуллина З.Р.¹ • Великанова Л.И.¹ • Ворохобина Н.В.¹ • Малеваная Е.В.¹ • Стрельникова Е.Г.¹ • Бохан В.Ю.² • Бритвин Т.А.³ • Стилиди И.С.²

Обоснование. Установлено, что длительные эпизоды декомпенсации врожденной дисфункции коры надпочечников (ВДКН) приводят к появлению вторичных новообразований в надпочечниках. У пациентов с дефектом 21-гидроксилазы частота выявления инциденталом надпочечников составляет от 11 до 82%. У больных аденокортикальным раком (АКР) по данным газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) установлена повышенная продукция предшественников стероидных гормонов вследствие снижения активности ферментов адреналового стероидогенеза, главным образом, 21-гидроксилазы и 11 β -гидроксилазы. Представляется актуальным исследование особенностей метаболизма стероидов методом ГХ-МС у больных АКР и у пациентов с ВДКН вследствие дефекта 21-гидроксилазы с ИН.

Цель – установить общие нарушения метаболизма стероидов и дифференциально-диагностические биомаркеры больных АКР и с ВДКН вследствие дефекта 21-гидроксилазы с ИН методом ГХ-МС.

Материал и методы. Обследован 41 пациент с новообразованиями коры надпочечников в возрасте от 18 до 65 лет без клинических и лабораторных признаков эндогенного гиперкортизолизма: 23 больных АКР без метастазов и 18 пациентов с ВДКН вследствие дефекта 21-гидроксилазы. Группу контроля составили

26 здоровых доноров в возрасте от 20 до 59 лет. Методом ГХ-МС исследовали стероидные профили мочи на газовом хромато-масс-спектрометре Shimadzu GCMS-QP2020.

Результаты. У больных АКР установлено повышение экскреции с мочой тетрагидро-11-дезоксикортизола, дегидроэпиандростерона, андростендиола-17 β , этиохоланола, прегнандиола и 3 β ,16,20-прегнентриола (3 β ,16,20-dP3), снижение соотношения 3 α ,16,20-dP3/3 β ,16,20-dP3 в сравнении с показателями пациентов с ВДКН с дефицитом 21-гидроксилазы; получены признаки уменьшения активности 21-гидроксилазы, 11 β -гидроксилазы, 5 α -редуктазы и 11 β -гидроксистероиддегидрогеназы 2-го типа по сравнению со здоровыми донорами. Для больных ВДКН с дефектом 21-гидроксилазы характерно увеличение в сравнении с больными АКР экскреции с мочой 11-оксо-прегнантиола (11-охо-Р3), 21-дезокситетрагидрокортизола и уменьшение соотношения (5 β -ТНФ+5 α -ТНФ+ТНЕ)/11-охо-Р3 менее 9,0, определение 11-охо-dP3, признаки увеличения активности 5 α -редуктазы и уменьшения активности 11 β -гидроксистероиддегидрогеназы 1-го типа. У больных АКР и ВДКН с дефектом 21-гидроксилазы выявлены общие нарушения в метаболизме стероидов: признаки снижения активности 21-гидроксилазы, 3 β -гидроксистероиддегидрогеназы и 11 β -гидроксилазы, отсутствие различий

экскреции с мочой ряда биомаркеров АКР (андрогенов, прегнандиола, 5-еке-прегненов).

Заключение. Исследование экскреции с мочой андрогенов, прогестагенов и глюкокортикоидов методом ГХ-МС дало возможность установить общие нарушения в метаболизме стероидов у больных АКР и ВДКН вследствие дефекта 21-гидроксилазы, что подтверждает роль нарушений стероидогенеза в процессе формирования опухолей коры надпочечников.

Ключевые слова: аденокортикальный рак, врожденная дисфункция коры надпочечников, дефект 21-гидроксилазы, газовая хромато-масс-спектрометрия, метаболизм стероидов

Для цитирования: Шафигуллина ЗР, Великанова ЛИ, Ворохобина НВ, Малеваная ЕВ, Стрельникова ЕГ, Бохан ВЮ, Бритвин ТА, Стилиди ИС. Особенности метаболизма стероидов по данным газовой хромато-масс-спектрометрии у больных аденокортикальным раком и с инциденталомой надпочечников при врожденной дисфункции коры надпочечников. Альманах клинической медицины. 2022;50(1):38–46. doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-007.

Поступила 16.12.2021; доработана 17.02.2022; принята к публикации 18.03.2022; опубликована онлайн 12.04.2022



Причиной развития опухолей коры надпочечников может быть врожденная дисфункция коры надпочечников (ВДКН) – генетическое заболевание, чаще всего обусловленное дефицитом 21-гидроксилазы, вызванным мутациями гена *CYP21A2*, и влияющее на биосинтез кортизола. Ряд авторов показали, что длительные (не менее 5 лет) эпизоды декомпенсации ВДКН с дефицитом 21-гидроксилазы приводят к появлению вторичных новообразований в надпочечниках у 29% больных [1]. Как установили в 2016 г. на основании анализа 36 публикаций Н. Falhammar и D.J. Torpy, у пациентов с новообразованиями в надпочечниках ВДКН обнаруживается в 5,9% случаев при проведении биохимического скрининга и в 0,8% при генетическом анализе. У пациентов с ВДКН частота выявления инциденталом надпочечников (ИН) варьирует от 11 до 82%; кроме того, узловые образования надпочечников обнаруживаются у 45% носителей мутантного гена ВДКН [2].

В обзоре 2021 г. H.L. Claahsen-van der Grinten и соавт. констатируют появление в этой области новой разработки – диагностики с использованием хроматографических методов в сочетании со стероидным профилированием, что дает более полное понимание нарушений путей стероидогенеза и способствует улучшению методов генотипирования [3]. Комплексный 24-часовой анализ стероидного метаболома методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) – самый информативный тест, позволяющий обнаружить различные нарушения в метаболизме андрогенов, прогестагенов и глюкокортикоидов, а также установить новые пути стероидогенеза [4].

Частота встречаемости адренокортикального рака (АКР) среди больных с ИН составляет от 1,2 до 12%. Некоторые авторы отмечают, что больные АКР, не имеющие клинических признаков избыточной секреции стероидов, могут иметь повышенную продукцию предшественников стероидов вследствие ингибирования ферментов адреналового стероидогенеза [5–8]. Ранее мы установили признаки недостаточности 21-гидроксилазы и 11 β -гидроксилазы у 79,3% больных АКР по данным ГХ-МС [8]. Представляется актуальным сравнение стероидных профилей мочи (СПМ) на основе метода ГХ-МС у больных с ИН при ВДКН вследствие дефекта 21-гидроксилазы и у больных АКР для выявления различий и общих нарушений в метаболизме стероидов.

Материал и методы

Обследован 41 пациент с новообразованиями коры надпочечников в возрасте от 18 до 65 лет

Шафигуллина Зульфия Ривгатовна – канд. мед. наук, доцент кафедры эндокринологии им. акад. В.Г. Баранова¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8292-8504>

Великанова Людмила Иосифовна – д-р биол. наук, профессор, заведующая научно-исследовательской лабораторией хроматографии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9352-4035>
✉ 191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41, Российская Федерация.
Тел.: +7 (921) 379 32 95.
E-mail: velikanova46@gmail.com

Ворохобина Наталья Владимировна – д-р мед. наук, профессор, заведующая кафедрой эндокринологии им. акад. В.Г. Баранова¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9574-105X>

Малеваная Екатерина Валерьевна – канд. хим. наук, ст. науч. сотр. научно-исследовательской лаборатории хроматографии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0880-0814>

Стрельникова Елена Геннадьевна – канд. хим. наук, ст. науч. сотр. научно-исследовательской лаборатории хроматографии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1208-8092>

¹ ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России; 191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41, Российская Федерация

без клинических и лабораторных признаков эндогенного гиперкортизолизма: 23 пациента с АКР до лечения в возрасте 46 (39–55) лет, 18 пациентов с ВДКН в возрасте 27 (21–46) лет. Группу контроля составили 26 здоровых доноров в возрасте 33 (27–40) лет. Все пациенты проходили обследование и лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России и ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского. Все обследованные пациенты подписали информированное согласие.

По данным компьютерной томографии размер новообразования коры надпочечника у больных АКР составил 85 (70–120) мм, у больных ВДКН – 31 (8,0–38) мм. Диагноз ВДКН подтвержден молекулярно-генетическим исследованием и уровнем 17-ОН-прогестерона в сыворотке крови, который составил 17,8 (8,7–20,4) нг/мл по данным иммуноферментного анализа. Три пациента с ВДКН были прооперированы, патоморфологический диагноз – аденома коры надпочечников. Диагноз АКР подтвержден патоморфологическим исследованием удаленной опухоли (более 3 баллов по шкале L.M. Weiss). Уровень кортизола в сыворотке крови у всех обследованных больных составил менее 50 нмоль/л, что было определено методом иммунохемилюминесцентного анализа.

Методом ГХ-МС исследовали СПМ на газовом хромато-масс-спектрометре Shimadzu GCMS-QP2020 с использованием жидкостной экстракции [9]. Все гормональные исследования проводили в научно-исследовательской лаборатории хроматографии ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава России. На проведение данного observationalного исследования было получено разрешение независимого комитета по этике.

Статистическую обработку данных выполняли с использованием программного пакета Statistica for Windows (версия 10). Основные количественные характеристики исследованных показателей больных и здоровых доноров представлены в виде медианы (Me), 25-го и 75-го перцентилей (Q₂₅–Q₇₅). Для сравнения результатов использовали непараметрический критерий Манна – Уитни. Статистически значимым считали критерий $p < 0,017$ на основании поправки Бонферрони. Чувствительность и специфичность рассчитали по программе Medcalc с использованием метода ROC-кривых (англ. receiver operating characteristic curve) и площади под ними (англ. area under the curve, AUC).



Результаты

На основании исследования СПМ методом ГХ-МС у больных АКР и ВДКН получены различия метаболизма андрогенов, глюкокортикоидов и их предшественников, а также общие нарушения адреналового стероидогенеза.

У всех обследованных больных в сравнении с группой контроля установлено увеличение экскреции с мочой андрогенов: дегидроэпиандростерона (DHEA) и его метаболитов – андростендиола-17 β (dA2-17 β), 16-охо-dA2, андростендиола (dA3), метаболитов андростендиона – андростерона (An), этиохоланолона (Et), 11-ОН-An, 11-ОН-Et и 11-охо-Et (табл. 1). У больных АКР в сравнении со здоровыми донорами, кроме перечисленных андрогенов, отмечено повышение экскреции с мочой метаболитов DHEA: 16-ОН-DHEA-3 α и 16-ОН-DHEA-3 β . Для больных АКР характерно значительное увеличение экскреции с мочой DHEA ($p=0,0004$), dA2-17 β ($p=0,001$), dA3 ($p=0,016$) и Et ($p=0,011$) в сравнении с показателями пациентов с ВДКН (см. табл. 1).

У больных АКР и ВДКН в сравнении с группой контроля получено повышение экскреции с мочой тетрагидрометаболитов глюкокортикоидов: тетрагидро-11-дезоксикортизола (THS) и 5 α -тетрагидрокортикостерона (5 α -ТНВ). У больных АКР в сравнении со здоровыми донорами увеличена экскреция с мочой 5 β -ТНВ и 5 β -тетрагидрокортизола (5 β -ТНФ) (см. табл. 1). Экскреция с мочой THS более 715 мкг/сут с чувствительностью 88,2% и специфичностью 84,6% ($AUC=0,91$, $p<0,0001$), 5 β -ТНВ ($p=0,0007$) и 5 β -ТНФ ($p=0,004$) была выше у больных АКР в сравнении с показателями пациентов с ВДКН (см. табл. 1). Следует отметить, что у 73,9% больных АКР установлено увеличение экскреции с мочой основных биомаркеров АКР – THS, DHEA и его метаболитов. Для большинства больных ВДКН (78,9%) характерно повышение экскреции с мочой андрогенов при экскреции с мочой THS, находящегося в области референсных значений.

У больных ВДКН установлено 2 признака увеличения активности 5 α -редуктазы: повышение соотношений 5 α -ТНВ/5 β -ТНВ и 11-ОН-An/11-ОН-Et. У пациентов с АКР получены 2 признака увеличения активности 5 β -редуктазы: снижение соотношений 5 α -ТНФ/5 β -ТНФ и An/Et в сравнении с группой контроля, что приводит к повышению экскреции с мочой 5 β -ТНФ и этиохоланолона (табл. 2). Следует отметить, что 4 признака активности 5 α -редуктазы у больных АКР были ниже, чем у пациентов с ВДКН ($p<0,005$) (см. табл. 2).

Бохян Ваган Юрикович – д-р мед. наук, заведующий хирургическим отделением № 5 (эндокринной онкологии)²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9066-5190>

Бритвин Тимур Альбертович – д-р мед. наук, заведующий отделом хирургии³; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6160-1342>. E-mail: t.britvin@gmail.com

Стилиди Иван Сократович – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, директор²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0493-1166>. E-mail: ronc@list.ru

Признак уменьшения активности 11 β -гидроксистероиддегидрогеназы (11 β -ГСДГ) 1-го типа (снижение соотношения ТНВ/ТНА) в сравнении со здоровыми донорами получен у больных ВДКН. Повышение соотношения 5 β -ТНФ/ТНЕ у больных АКР указывает на снижение активности 11 β -ГСДГ 2-го типа, что приводит к увеличению ТНФ, метаболита кортизола, наиболее активного глюкокортикоида (см. табл. 1 и 2).

У больных АКР и ВДКН в сравнении с группой контроля выявлен признак уменьшения активности 11 β -гидроксилазы – снижение соотношения (5 β -ТНФ+5 α -ТНФ+ТНЕ)/ТНС (см. табл. 2). Дополнительный признак уменьшения активности 11 β -гидроксилазы получен у больных АКР – увеличение экскреции с мочой гексагидро-11-дезоксикортизола (ННС) в сравнении с группой контроля (см. табл. 1). У больных АКР соотношение (5 β -ТНФ+5 α -ТНФ+ТНЕ)/ТНС менее 7,7 с чувствительностью 93,7% и специфичностью 71,5% ($AUC=0,83$; $p=0,0001$) было меньше, чем аналогичные показатели пациентов с ВДКН (см. табл. 1 и 2).

У больных АКР и пациентов с ВДКН в сравнении с группой контроля обнаружено увеличение экскреции с мочой основных биомаркеров дефекта 21-гидроксилазы: 17-ОН-прегнанолона (17-ОНР) и его метаболитов – прегнантриола (P3) и 11-оксо-прегнентриола (11-охо-P3). Кроме этих стероидов получено повышение экскреции с мочой прегнанолона (P), 6-ОН-P, прегнандиола (P2), 5-ене-прегненов: прегнендиола (dP2), 3 α ,17,20-прегнентриола (dP3) и 3 α ,16,20-dP3 (см. табл. 1). У больных ВДКН установлено увеличение экскреции с мочой 16-ОН-P2 и 11-ОН-P3 по сравнению со здоровыми донорами и больными АКР ($p=0,008$ и $p=0,011$ соответственно). У больных АКР в сравнении с показателями пациентов с ВДКН получено повышение экскреции с мочой dP2 ($p=0,012$) (см. табл. 1).

У больных ВДКН установлено увеличение в сравнении с АКР экскреции с мочой 11-охо-P3 и 21-deoxy-ТНФ, снижение соотношений (5 β -ТНФ+5 α -ТНФ+ТНЕ)/11-охо-P3 и (5 β -ТНФ+5 α -ТНФ+ТНЕ)/P3 (см. табл. 1 и 2). Экскреция с мочой 11-охо-P3 более 440 мкг/сут с чувствительностью 85,7% и специфичностью 90% ($AUC=0,95$; $p<0,0001$), 21-deoxy-ТНФ более 181 мкг/сут с чувствительностью 100% и специфичностью 80% ($AUC=0,88$; $p=0,002$), снижение соотношений (5 β -ТНФ+5 α -ТНФ+ТНЕ)/11-охо-P3 менее 9,0 с чувствительностью 93% и специфичностью 100% ($AUC=0,98$; $p<0,0001$) и (5 β -ТНФ+5 α -ТНФ+ТНЕ)/P3 подтверждают наличие дефекта фермента

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 23, Российская Федерация

³ ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»; 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2, Российская Федерация



Таблица 1. Показатели экскреции стероидов с мочой, полученные методом газовой хромато-масс-спектрометрии, у больных аденокортикальным раком и врожденной дисфункцией коры надпочечников вследствие дефекта 21-гидроксилазы

| Стероиды, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅), мкг/сут | Группа контроля (n = 26) | Пациенты с аденокортикальным раком (n = 23) | Пациенты с ВДКН с дефектом 21-гидроксилазы (n = 18) |
|---|--------------------------|---|---|
| Андрогены | | | |
| Андростерон (An) | 898 (637–1162) | 1241 (663–4076) p = 0,009 | 1819 (1085–4158) p = 0,0006 |
| Этиохоланолон (Et) | 758 (464–1231) | 2159 (1377–6445)* p < 0,0001 | 1838 (734–2761) p = 0,014 |
| Андростендиол-17β (dA2-17β) | 100 (72–117) | 1233 (670–2292)* p < 0,0001 | 305 (144–790) p = 0,008 |
| Дегидроэпиандростерон (DHEA) | 250 (69–391) | 5570 (1547–27355)** p < 0,0001 | 522 (295–2004) p = 0,004 |
| 16-OH-DHEA-3α | 155 (87–203) | 1471 (513–5517)* p = 0,004 | 199 (93–425) p = 0,29 |
| 16-OH-DHEA-3β | 185 (112–417) | 1056 (718–1487) p = 0,0002 | 823 (292–1997) p = 0,022 |
| Андростендиол (dA3) | 254 (168–489) | 1630 (874–4462)* p < 0,0001 | 625 (303–1154) p = 0,009 |
| 16-oxo-dA2 | 25 (18–53) | 596 (183–1943) p = 0,0004 | 122 (71–274) p = 0,015 |
| 11-oxo-Et | 190 (150–272) | 344 (252–640) p = 0,009 | 498 (317–1911) p = 0,0001 |
| 11-OH-An | 434 (331–694) | 1241 (563–2846) p = 0,002 | 1818 (1224–7705) p < 0,0001 |
| 11-OH-Et | 253 (210–300) | 702 (464–1983) p = 0,0007 | 559 (334–936) p = 0,004 |
| Прогестагены | | | |
| Прегнанолон | 25 (20–52) | 389 (173–527) p = 0,002 | 449 (121–1145) p = 0,0009 |
| 6-гидроксипрегнанолон (6-OHP) | 13 (11–16) | 111 (97–343) p = 0,016 | 307 (177–434) p = 0,0009 |
| 16-гидроксипрегнанолон (16-OHP) | Не обнаружен | 48 (19–76)* | 490 (185–2298) |
| 17-гидроксипрегнанолон (17-OHP) | 182 (55–235) | 1112 (500–1363) p < 0,0001 | 3140 (381–7903) p < 0,0001 |
| Прегнандиол (P2) | 591 (323–802) | 2805 (1100–4754) p < 0,0001 | 2660 (1704–4508) p < 0,0001 |
| 16-гидроксипрегнандиол (16-OHP2) | 60 (48–78) | 240 (107–263)* p = 0,075 | 749 (318–2010) p = 0,003 |
| Прегнантриол (P3) | 448 (375–612) | 1981 (1086–4967) p < 0,0001 | 4013 (1722–11432) p < 0,0001 |
| 11-OH-прегнантриол | 50 (38–139) | 68 (52–156)** | 319 (268–616) p = 0,008 |

Шафигуллина З.Р., Великанова Л.И., Ворохобина Н.В., Малеваная Е.В., Стрельникова Е.Г., Бохан В.Ю., Бритвин Т.А., Стилиди И.С.

Особенности метаболизма стероидов по данным газовой хромато-масс-спектрометрии у больных аденокортикальным раком и с инциденталомой надпочечников при врожденной дисфункции коры надпочечников



| | | | |
|---|------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| 11-оксо-пребнантиол (11-охо-РЗ) | 25 (18–31) | 127 (107–227)** p < 0,0001 | 1094 (538–5297) p < 0,0001 |
| 21-дезоксидетрагидрокортизол | Не обнаружен | 103 (80–181)* | 741 (310–2865) |
| Пребнантиол (dP2) | 388 (243–643) | 3131 (2143–4984)* p < 0,0001 | 1141 (665–2824) p = 0,0003 |
| 5-пребнент-3α,16α,20α-триол (3α,16,20-dP3) | 139 (113–173) | 1053 (306–1750) p < 0,0001 | 700 (295–1736) p < 0,0001 |
| 5-пребнент-3α,17,20-триол (3α-dP3) | 248 (170–334) | 2026 (1112–3556) p < 0,0001 | 1048 (446–3648) p < 0,0001 |
| Глюкокортикоиды и минералокортикоиды | | | |
| Тетрагидро-11-дезоксидкортизол (ТНС) | 34 (13–58) | 1441 (1058–3455)* p < 0,0007 | 201 (25–651) p = 0,004 |
| Гексагидро-11-дезоксидкортизол (ННС) | 15 (11–38) | 443 (132–2079) p < 0,0001 | 71 (43–313) p = 0,18 |
| Тетрагидрокортизон (ТНЕ) | 1395 (1192–1836) | 1560 (904–2431) p = 0,18 | 1262 (972–1639) p = 0,26 |
| Тетрагидрокортизол (ТНФ) | 508 (362–644) | 953 (441–1661)* p = 0,009 | 400 (175–741) p = 0,40 |
| 5α-ТНФ | 391 (272–743) | 361 (212–1043) p = 0,57 | 450 (314–789) p = 0,91 |
| Тетрагидрокортикостерон (ТНВ) | 74 (45–103) | 235 (119–476)** p = 0,001 | 75 (25–101) p = 0,41 |
| 5α-ТНВ | 99 (35–169) | 227 (100–600) p = 0,013 | 300 (141–400) p = 0,002 |
| Тетрагидро-11-дегидрокортикостерон (ТНА) | 63 (38–101) | 41 (23–105) p = 0,78 | 100 (45–514) p = 0,14 |

АКР – аденокортикальный рак, ВДКН – врожденная дисфункция коры надпочечников,

p – статистическая значимость различий показателей пациентов с АКР и ВДКН вследствие дефекта 21-гидроксилазы в сравнении с показателями группы контроля

*p < 0,017, **p < 0,001 – статистическая значимость различий показателей пациентов с АКР с аналогичными показателями у пациентов с ВДКН вследствие дефекта 21-гидроксилазы

21-гидроксилазы у больных ВДКН по данным ГХ-МС (см. табл. 1, 2). Соотношение (5β-ТНФ+5α-ТНФ+ТНЕ)/17-ОНР, один из биомаркеров 21-гидроксилазы, было уменьшено у больных АКР и ВДКН в сравнении с группой контроля, но не различалось между группами больных (см. табл. 2). Среди больных АКР снижение соотношений (5β-ТНФ+5α-ТНФ+ТНЕ)/11-охо-РЗ и (5β-ТНФ+5α-ТНФ+ТНЕ)/РЗ в сочетании с повышением экскреции с мочой РЗ и 11-охо-РЗ не исключает наличия недостаточности 21-гидроксилазы у ряда пациентов (см. табл. 1 и 2).

Экскреция с мочой 11-охо-РЗ обнаружена только у больных с ВДКН (табл. 3). У больных АКР при сравнении с показателями пациентов с ВДКН экскреция с мочой 3β,16,20-dP3 была выше, а соотношение 3α,16,20-dP3/3β,16,20-dP3

менее 2,5 с чувствительностью 88% и специфичностью 85% (AUC = 0,88; p = 0,0001), что указывает на информативность данных показателей в диагностике АКР (см. табл. 3).

У больных АКР и ВДКН получены признаки недостаточности 3β-ГСДГ-2 (3β-HSD2): уменьшение соотношений (5β-ТНФ+5α-ТНФ+ТНЕ)/DHEA и (5β-ТНФ+5α-ТНФ+ТНЕ)/dP3 в сравнении с группой контроля (см. табл. 2). У пациентов с АКР по сравнению со здоровыми донорами установлен дополнительный признак недостаточности 3β-HSD2 – увеличение соотношения dP3/11-охо-РЗ (см. табл. 2).

У больных АКР и ВДКН получены общие нарушения в метаболизме андрогенов, прогестагенов и глюкокортикоидов. У больных АКР в сравнении с показателями пациентов с ВДКН не различались



Таблица 2. Признаки нарушений метаболизма стероидов больных с врожденной дисфункцией коры надпочечников вследствие дефекта 21-гидроксилазы и пациентов с аденокортикальным раком по данным газовой хромато-масс-спектрометрии

| Соотношение «продукт/субстрат», Ме (Q_{25} – Q_{75}) | Группа контроля (n=26) | Пациенты с ВДКН с дефектом 21-гидроксилазы (n=18) | Пациенты с АКР (n=23) |
|--|------------------------|--|--------------------------------|
| Признаки дефекта 5α-редуктазы | | | |
| An/Et | 1,2 (0,8–1,4) | 1,3 (1,1–1,8) p=0,35 | 0,55 (0,37–0,79)* p<0,0001 |
| 11-OH-An / 11-OH-Et | 1,5 (1,4–2,2) | 4,5 (3,0–5,6) p<0,0001 | 1,1 (0,4–2,6)** p=0,25 |
| 5 α -ТНВ / 5 β -ТНВ | 1,3 (0,8–1,9) | 4,0 (2,0–12,4) p<0,0001 | 0,8 (0,4–2,5)*** p=0,39 |
| 5 α -ТНФ / 5 β -ТНФ | 1,0 (0,7–1,2) | 1,3 (0,8–2,0) p=0,17 | 0,5 (0,2–1,1)** p=0,016 |
| Признаки дефекта 21-гидроксилазы | | | |
| (5 β -ТНФ+5 α -ТНФ+ТНЕ) / 11-охо-прегнентриол | 162 (108–210) | 2,6 (0,5–4,3) p<0,0001 | 25,9 (17,1–40,9)* p=0,0001 |
| (5 β -ТНФ+5 α -ТНФ+ТНЕ) / прегнентриол | 5,3 (3,9–6,9) | 0,41 (0,12–1,14) p<0,0001 | 1,7 (0,6–3,6)** p<0,0001 |
| (5 β -ТНФ+5 α -ТНФ+ТНЕ) / 17-гидроксипрегненолон | 20,1 (10,2–40,1) | 1,0 (0,2–4,6) p<0,0001 | 4,7 (1,4–7,6) |
| Признаки дефекта 11β-гидроксистероиддегидрогеназы | | | |
| ТНФ/ТНЕ | 0,35 (0,29–0,38) | 0,34 (0,17–0,51) p=0,81 | 0,60 (0,34–1,03) p=0,011 |
| ТНВ/ТНА | 1,01 (0,85–1,47) | 0,64 (0,19–0,74) p=0,0003 | 2,16 (1,0–4,46)*** p=0,12 |
| Признак дефекта 11β-гидроксилазы | | | |
| (ТНФ+allo-ТНФ+ТНЕ) / ТНС | 111 (46–144) | 9,7 (3,8–55,6) p=0,004 | 2,8 (1,2–6,9)** p<0,0001 |
| Признаки дефекта 3β-гидроксистероиддегидрогеназы-2 | | | |
| Прегнентриол / 11-охо-прегнентриол | 10,2 (8,3–19,7) | 0,66 (0,33–1,63) p<0,0001 | 20,3 (16,2–29,7)* p=0,011 |
| (5 β -ТНФ+5 α -ТНФ+ТНЕ) / дегидроэпиандростерон | 13,7 (9,0–24,6) | 3,4 (1,4–6,8) p=0,001 | 0,58 (0,23–4,07)** p<0,0001 |
| (5 β -ТНФ+5 α -ТНФ+ТНЕ) / прегнентриол | 11,6 (8,2–16,3) | 1,6 (0,8–4,1) p<0,0001 | 1,5 (1,4–3,1) p<0,0001 |

An – андростерон, Et – этиохоланолон, ТНА – тетрагидро-11-дегидрокортикостерон, ТНВ – тетрагидрокортикостерон, ТНЕ – тетрагидрокортизон, ТНФ – тетрагидрокортизол, ТНС – тетрагидро-11-дезоксикортизол, АКР – аденокортикальный рак, ВДКН – врожденная дисфункция коры надпочечников

p – статистическая значимость различий показателей пациентов с АКР и ВДКН вследствие дефекта 21-гидроксилазы в сравнении с показателями группы контроля

* p < 0,0001, ** p < 0,017, *** p < 0,001 – статистическая значимость различий показателей пациентов с АКР с показателями пациентов с ВДКН вследствие дефекта 21-гидроксилазы

экскреция с мочой метаболитов DHEA (16-OH-DHEA-3 β , p=0,29; 16-охо-dA2, p=0,031), метаболитов андростендиона (An, p=0,55; 11-OH-An, p=0,04; 11-OH-Et, p=0,35; 11-охо-Et, p=0,27), HNS

(p=0,036), показатель дефекта 11 β -гидроксилазы; биомаркеры дефекта 21-гидроксилазы: экскреция с мочой P3 (p=0,06) и 17-OHP (p=0,12), соотношение (5 β -ТНФ+5 α -ТНФ+ТНЕ)/17-OHP (p=0,02);

**Таблица 3.** Экскреция с мочой 5-ene-прегненов у больных с врожденной дисфункцией коры надпочечников вследствие дефекта 21-гидроксилазы и у пациентов с аденокортикальным раком, не обнаруженных у здоровых доноров, по данным газовой хромато-масс-спектрометрии

| Стероид, Me (Q_{25} – Q_{75}), мкг/сут | Пациенты с ВДКН с дефектом 21-гидроксилазы (n = 18) | Пациенты с АКР (n = 23) | Значение <i>p</i> |
|--|---|-------------------------|-------------------|
| Прегненолон | 105 (77–1067) | 354 (194–1312) | 0,36 |
| 17-гидроксипрегненолон | 300 (107–381) | 535 (191–1100) | 0,17 |
| 16-гидроксипрегненолон | 228 (61–977) | 221 (70–581) | 0,95 |
| 21-гидроксипрегненолон | 418 (134–940) | 201 (70–309) | 0,40 |
| 21-гидроксипрегнендиол | 4088 (1229–6948) | 971 (329–2195) | 0,39 |
| 3 β ,16,20-прегнентриол | 176 (94–500) | 750 (362–1224) | 0,016 |
| 3 β ,17,20-прегнентриол | 482 (149–1750) | 405 (253–11385) | 0,79 |
| 11-гидроксипрегнентриол | 124 (60–294) | 255 (74–879) | 0,40 |
| 11-охо-прегнентриол | 140 (94–247) | Не обнаружен | |
| Соотношение 3 α ,16,20-прегнентриола / 3 β ,16,20-прегнентриола | 4,3 (2,5–13,1) | 1,4 (1,2–2,1) | 0,013 |

АКР – аденокортикальный рак, ВДКН – врожденная дисфункция коры надпочечников

p – статистическая значимость различий показателей пациентов с ВДКН вследствие дефекта 21-гидроксилазы с показателями больных АКР

показатель дефекта 3 β -HSD2 – соотношение (5 β -ТНФ+5 α -ТНФ+ТНЕ)/dP3 ($p=0,63$) (см. табл.1 и 2). Кроме этого, у больных АКР экскреция с мочой 5-ene-прегненов, не определяемых у здоровых людей – прегненолон (dP), 16-ОН-dP, 17-ОН-dP, 21-ОН-dP, 11-ОН-dP3, 21-ОН-dP2 и 3 β ,17,20-dP3 – также не отличалась от показателей пациентов с ВДКН (см. табл. 3).

Обсуждение

По мнению многих авторов, исследование СПМ методом ГХ-МС наиболее информативно для изучения особенностей метаболизма стероидов при различных заболеваниях надпочечников [5, 10]. Ряд исследователей отмечают, что больные АКР, не имеющие клинических признаков избыточной секреции стероидов, могут иметь повышенную продукцию предшественников стероидов вследствие ингибирования ферментов адреналового стероидогенеза [5–8]. Опухоли надпочечников у пациентов с ВДКН с дефектом 21-гидроксилазы диагностируют с частотой от 11 до 82% [2]. Ранее увеличение экскреции с мочой ДНЕА, 17-ОНР и его метаболитов, 5-ene-прегненов установлено у пациентов и с АКР, и с ВДКН с дефектом 21-гидроксилазы [5, 8, 11].

В представленном нами исследовании проведен сравнительный анализ метаболизма стероидов методом ГХ-МС у больных АКР без

клинических и лабораторных признаков гиперкортизолизма и у пациентов с инциденталомой надпочечников при ВДКН. Установлены как различия, так и общие нарушения в метаболизме стероидов при данных заболеваниях надпочечников. Различия в метаболизме андрогенов, прогестагенов и глюкокортикоидов у больных АКР и ВДКН дали возможность выявить наиболее информативные биомаркеры этих заболеваний. У больных АКР и ВДКН отсутствовали различия в экскреции с мочой ряда биомаркеров АКР (андрогенов, прогестагенов, неклассических 5-ene-прегненов). Кроме этого, ряд показателей дефекта 21-гидроксилазы – экскреция с мочой P3, 17-ОНР и соотношение (5 β -ТНФ+5 α -ТНФ+ТНЕ)/17-ОНР, дефекта 3 β -HSD2 – соотношение (5 β -ТНФ+5 α -ТНФ+ТНЕ)/dP3 также не различались у больных АКР и ВДКН. Полученные данные указывают на наличие общих нарушений в метаболизме стероидов у данных пациентов и подтверждают роль нарушений стероидогенеза в процессе формирования опухолей коры надпочечников у больных с ВДКН вследствие дефекта 21-гидроксилазы.

Заключение

У больных АКР повышение экскреции с мочой ТНС (более 715 мкг/сут), ДНЕА,17 β -андростендиола, этиохолаолона, прегнендиола,



3 β ,16,20-прегнентриола, снижение соотношения 3 α ,16,20-dP3/3 β ,16,20-dP3 (менее 2,5) в сравнении с показателями пациентов с ВДКН, а также признаки снижения активности 5 α -редуктазы и 11 β -ГСДГ 2-го типа служат биомаркерами лабораторной диагностики АКР. У больных ВДКН увеличение в сравнении с показателями здоровых доноров и больных АКР экскреции с мочой 11-охо-Р3 (более 440 мкг/сут), 21-деоху-ТНФ (более 180 мкг/сут), 16-ОНР2, снижение соотношения (5 β -ТНФ+5 α -ТНФ+ТНЕ)/11-охо-Р3 менее 9,0, определение 11-охо-прегнентриола, не детектируемого у больных АКР, признаки увеличения активности 5 α -редуктазы и уменьшения активности 11 β -ГСДГ

1-го типа служат биомаркерами, подтверждающими диагноз ВДКН с дефектом 21-гидроксилазы по данным ГХ-МС. У больных АКР и ВДКН с дефектом 21-гидроксилазы установлены общие нарушения в метаболизме стероидов: признаки недостаточности 21-гидроксилазы, 11 β -гидроксилазы, 3 β -HSD2, отсутствие различий в экскреции с мочой ряда биомаркеров АКР (метаболитов ДНЕА и андростендиона, 6-ОН-прегнанолон, прегнандиол, прегнантриола, 17-ОН-прегнанолон и 5-ене-прегненов), ряда показателей дефектов 21-гидроксилазы и 3 β -HSD2, что подтверждает роль нарушений стероидогенеза в процессе формирования опухолей коры надпочечников. ©

Дополнительная информация

Финансирование

Работа проведена в рамках выполнения Госзадания Минздрава России, рег. № НИОКТР АААА-А19-119053190034-0.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов

З.Р. Шафигуллина – разработка дизайна клинической части исследования, сбор клинического материала, анализ полученных данных, написание текста; Л.И. Великанова – анализ полученных результатов, статистическая обработка данных, написание текста;

Н.В. Ворохобина – анализ клинико-экспериментальных результатов исследования, редактирование текста, утверждение итогового варианта текста рукописи; Е.В. Малеваная и Е.Г. Стрельникова – проведение исследований методом газовой хромато-масс-спектрометрии, анализ полученных результатов; В.Ю. Бохан и Т.А. Бритвин – сбор клинического материала, анализ полученных данных; И.С. Стилиди – редактирование текста, утверждение итогового варианта текста рукописи. Все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией, согласны нести ответственность за все аспекты работы и гарантируют, что ими надлежащим образом были рассмотрены и решены вопросы, связанные с точностью и добросовестностью всех частей работы.

Литература / References

- Mallappa A, Merke DP. Congenital Adrenal Hyperplasia. In: Kebebew E, editor. Management of Adrenal Masses in Children and Adults. Springer, Cham; 2017. p. 207–224.
- Falhammar H, Torpy DJ. Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency presenting as adrenal incidentaloma: a systematic review and meta-analysis. *Endocr Pract.* 2016;22(6):736–752. doi: 10.4158/EP151085.RA.
- Claahsen-van der Grinten HL, Speiser PW, Ahmed SF, Arlt W, Auchus RJ, Falhammar H, Flück CE, Guasti L, Huebner A, Kortmann BBM, Krone N, Merke DP, Miller WL, Nordenström A, Reisch N, Sandberg DE, Stikkelbroeck NMML, Touraine P, Utari A, Wudy SA, White PC. Congenital Adrenal Hyperplasia – Current Insights in Pathophysiology, Diagnostics, and Management. *Endocr Rev.* 2022;43(1):91–159. doi: 10.1210/edrv/bnab016.
- Storbeck KH, Schiffer L, Baranowski ES, Chortis V, Prete A, Barnard L, Gilligan LC, Taylor AE, Idkowiak J, Arlt W, Shackleton CHL. Steroid Metabolome Analysis in Disorders of Adrenal Steroid Biosynthesis and Metabolism. *Endocr Rev.* 2019;40(6):1605–1625. doi: 10.1210/er.2018-00262.
- Arlt W, Biehl M, Taylor AE, Hahner S, Libé R, Hughes BA, Schneider P, Smith DJ, Stiekema H, Krone N, Porfiri E, Opocher G, Bertherat J, Mantero F, Allolio B, Terzolo M, Nightingale P, Shackleton CH, Bertagna X, Fassnacht M, Stewart PM. Urine steroid metabolomics as a biomarker tool for detecting malignancy in adrenal tumors. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(12):3775–3784. doi: 10.1210/jc.2011-1565.
- Stigliano A, Chiodini I, Giordano R, Faggiano A, Canu L, Della Casa S, Loli P, Luconi M, Mantero F, Terzolo M. Management of adrenocortical carcinoma: a consensus statement of the Italian Society of Endocrinology (SIE). *J Endocrinol Invest.* 2016;39(1):103–121. doi: 10.1007/s40618-015-0349-9.
- Kerkhofs TM, Kerstens MN, Kema IP, Willems TP, Haak HR. Diagnostic Value of Urinary Steroid Profiling in the Evaluation of Adrenal Tumors. *Horm Cancer.* 2015;6(4):168–175. doi: 10.1007/s12672-015-0224-3.
- Velikanova LI, Shafigullina ZR, Lisitsin AA, Vorokhobina NV, Grigoryan K, Kukhianidze EA, Strelnikova EG, Krivokhizhina NS, Krasnov LM, Fedorov EA, Sablin IV, Moskvina AL, Bessonova EA. Different Types of Urinary Steroid Profiling Obtained by High-Performance Liquid Chromatography and Gas Chromatography-Mass Spectrometry in Patients with Adrenocortical Carcinoma. *Horm Cancer.* 2016;7(5–6):327–335. doi: 10.1007/s12672-016-0267-0.
- Великанова ЛИ, Стрельникова ЕГ, Объедкова ЕВ, Кривохижина НС, Шафигуллина ЗР, Григорян К, Поваров ВГ, Москвин АЛ. Получение стероидных профилей мочи больных с инциденталомой надпочечников методом газовой хромато-масс-спектрометрии. *Журнал аналитической химии.* 2016;71(7):775–781. doi: 10.7868/50044450216070161. [Velikanova LI, Strel'nikova EG, Obedkova EV, Krivokhizhina NS, Shafigullina ZR, Grigoryan K, Povarov VG, Moskvina AL. Generation of urinary steroid profiles in patients with adrenal incidentaloma using gas chromatography-mass spectrometry. *J Anal Chem.* 2016;71(7):748–754. doi: 10.7868/50044450216070161.]
- Krone N, Hughes BA, Lavery GG, Stewart PM, Arlt W, Shackleton CH. Gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) remains a pre-eminent discovery tool in clinical steroid investigations even in the era of fast liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC/MS/MS). *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2010;121(3–5):496–504. doi: 10.1016/j.jsbmb.2010.04.010.
- Miller WL, Auchus RJ. The molecular biology, biochemistry, and physiology of human steroidogenesis and its disorders. *Endocr Rev.* 2011;32(1):81–151. doi: 10.1210/er.2010-0013.



Specific characteristics of metabolomics as assessed by gas chromatography-mass spectrometry in patients with adrenocortical cancer and with adrenal incidentalomas in congenital adrenal hyperplasia

Z.R. Shafigullina¹ • L.I. Velikanova¹ • N.V. Vorokhobina¹ • E.V. Malevanaya¹ • E.G. Strelnikova¹ • V.Yu. Bokhian² • T.A. Britvin³ • I.S. Stilidi²

Background: Prolonged episodes of uncontrolled congenital adrenal hyperplasia (CAH) have been shown to result in the occurrence of secondary adrenal neoplasms. Prevalence of adrenal incidentalomas in the patients with 21-hydroxylase deficiency ranges from 11% to 82%. As assessed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), patients with adrenocortical cancer (ACC) have increased level of steroid hormone precursors due to decreased activity of adrenal steroidogenesis enzymes, mainly that of 21-hydroxylase and 11 β -hydroxylase. It seems relevant to compare the specific characteristics of steroid metabolism by GC-MS in ACC patients and in patients with adrenal incidentalomas and CAH associated with 21-hydroxylase deficiency (21-OHD).

Aim: To identify (by GC-MS) common abnormalities in steroid metabolism and differential diagnostic biomarkers in ACC patients and CAH patients with 21-OHD and adrenal masses.

Materials and methods: The study included 41 patients with adrenal cortex neoplasms aged 18 to 65 years without clinical and laboratory signs of endogenous hypercortisolism. Twenty three (23) patients had non-metastatic ACC and 18 patients had CAH due to 21-OHD. The control group included 26 healthy blood donors aged 20 to 59 years. Urine steroid profiles were measured by GC-MS with a gas chromatograph-mass spectrometer (Shimadzu GCMS-QP2020).

Results: In the ACC patients, there was an increase in urinary excretion of tetrahydro-11-deoxycortisol, dehydroepiandrosterone, androstenediol-17 β , etiocholanolone, pregnenediol, and 3 β ,16,20-pregnenetriol (3 β ,16,20-dP3), as well as a decrease in the 3 α ,16,20-dP3/3 β ,16,20-dP3 ratio, compared to the values in the patients with CAH due to 21-OHD. Compared to the healthy control, 21-hydroxylase, 11 β -hydroxylase, 5 α -reductase and 11 β -hydroxysteroid-dehydrogenase

(11 β -HSDH) type 2 activities were lower. Compared to the ACC patients, those with CAH due to 21-OHD had higher urinary excretion of 11-oxo-pregnatriol (11-oxo-P3) and 21-deoxy-tetrahydrocortisol and lower 5 β -THF+5 α -THF+THE/11-oxo-P3 ratio of < 9.0, determination of 11-oxo-dP3, signs higher 5 α -reductase activity and lower 11 β -HSDH type 1 activity. The ACC patients and the patients with CAH due to 21-OHD had common abnormalities of steroid metabolism, such as lower activities of 21-hydroxylase, 3 β -hydroxysteroid-dehydrogenase and 11 β -hydroxylase, and no differences in urinary excretion of a number of ACC biomarkers (androgens, pregnenediol, and 5-ene-pregnenes).

Conclusion: The assessment of urinary excretion of androgens, progestagens, and glucocorticoids by GC-MS made it possible to identify common abnormalities in steroid metabolism in the patients with ACC and CAH due to 21-OHD, which confirms the role of disordered steroidogenesis in the formation of adrenocortical tumors.

Key words: adrenocortical cancer, congenital adrenal hyperplasia, 21-hydroxylase deficiency, gas chromatography-mass spectrometry, steroid metabolomics

For citation: Shafigullina ZR, Velikanova LI, Vorokhobina NV, Malevanaya EV, Strelnikova EG, Bokhian VYu, Britvin TA, Stilidi IS. Specific characteristics of metabolomics as assessed by gas chromatography-mass spectrometry in patients with adrenocortical cancer and with adrenal incidentalomas in congenital adrenal hyperplasia. *Almanac of Clinical Medicine*. 2022;50(1):38–46. doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-007.

Received 16 December 2021; revised 17 February 2022; accepted 18 March 2022; published online 12 April 2022

Funding

The study was conducted as a part of the State task from the Russian Ministry of Health, registration # NIOCTR AAAA-A19-119053190034-0.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

Authors' contributions

Z.R. Shafigullina, design of the clinical part of the study, clinical data collection and analysis, text writing; L.I. Velikanova, analysis of the results, statistical analysis, text writing; N.V. Vorokhobina, analysis of clinical and experimental study results, text editing, approval of the final version of the manuscript; E.V. Malevanaya and E.G. Strelnikova, gas chromatography-mass spectrometry studies, analysis of the results, V.Yu. Bokhian and T.A. Britvin, clinical data collection and analysis; I.S. Stilidi, text editing, approval of the final version of the manuscript. All the authors have read and approved the final version of the manuscript before submission, agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work have been appropriately investigated and resolved.

Zulfiya R. Shafigullina – MD, PhD, Associate Professor, Chair of Endocrinology named after V.G. Baranov¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8292-8504>

Ludmila I. Velikanova – Doctor of Biol. Sci., Professor, Head of Scientific Laboratory of Chromatography¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9352-4035>

✉ 41 Kirochnaya ul., Saint Petersburg, 191015, Russian Federation. Tel.: +7 (921) 379 32 95. E-mail: velikanova46@gmail.com

Natalia V. Vorokhobina – MD, PhD, Professor, Head of Chair of Endocrinology named after V.G. Baranov¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9574-105X>

Ekaterina V. Malevanaya – PhD (in Chem.), Senior Research Fellow, Scientific Laboratory of Chromatography¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0880-0814>

Elena G. Strelnikova – PhD (in Chem.), Senior Research Fellow, Scientific Laboratory of Chromatography¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1208-8092>

Vagan Yu. Bokhian – MD, PhD, Head of Surgical Department No. 5 (Endocrine Oncology)²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9066-5190>

Timur A. Britvin – MD, PhD, Head of Department of Surgery²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6160-1342>. E-mail: t.britvin@gmail.com

Ivan S. Stilidi – MD, PhD, Professor, Member of Russ. Acad. Sci., Director²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0493-1166>. E-mail: ronc@list.ru

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov; 41 Kirochnaya ul., Saint Petersburg, 191015, Russian Federation

²N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology; 24 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation

³Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI); 61/2 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation



Оригинальная статья

Сравнение результатов лечения больных неоперабельным немелкоклеточным раком легкого в рамках клинических исследований и стандартной клинической практики методом псевдорандомизации

Моисеенко Ф.В.^{1,2,3} • Федянин М.Ю.^{4,5} • Волков Н.М.¹ • Абдулоева Н.Х.¹ • Левченко Н.В.¹ • Чубенко В.А.¹ • Жабина А.С.^{1,2} • Степанова М.Л.¹ • Крамчанинов М.М.¹ • Артемьева Е.В.¹ • Моисеенко В.М.¹

Актуальность. Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) – агрессивное заболевание с медианой выживаемости у неоперабельных пациентов в доиммунотерапевтическую эпоху 12–14 месяцев. Сегодня на фоне терапии ингибиторами контрольных точек показатели выживаемости возросли до 19–22 месяцев, однако лишь часть больных чувствительна к иммунотерапии. В этой связи включение в клинические исследования остается для пациентов приоритетным вариантом с медицинской точки зрения.

Цель – сравнение результатов лечения пациентов с НМРЛ в соответствии с текущими клиническими рекомендациями и в рамках международных клинических исследований методом псевдорандомизации (англ. propensity score matching).

Материал и методы. В исследование включены данные о 344 больных с гистологически верифицированным распространенным нерезектабельным НМРЛ без активирующих мутаций, получавших 1-ю линию системной лекарственной терапии в различных комбинациях (монохимиотерапия, терапия на основе платиновых

дуплетов, химиоиммунотерапия, моноиммунотерапия) по программе обязательного медицинского страхования (ОМС), и 90 больных, получавших терапию в рамках клинических исследований. Прямое сравнение отдаленных результатов лечения проведено методом log-rank. С целью исключения влияния отдельных факторов на показатели выживаемости проведены монофакторный регрессионный анализ и псевдорандомизация с их учетом.

Результаты. При прямом сравнении результатов проведенного лечения выживаемость без прогрессирования была значительно выше у пациентов, леченных по протоколам клинических исследований, чем по программе ОМС, – 13,3 мес. (95% доверительный интервал (ДИ) 8,1–18,5) против 6,4 мес. (95% ДИ 5,9–6,9). После проведения псевдорандомизации пациентов оказалось, что время до прогрессирования оставалось больше в группе клинических исследований: 13,3 (95% ДИ 8,3–18,3) и 6,3 мес. (95% ДИ 4,8–7,7) соответственно.

Заключение. Участие в клинических исследованиях является *per se* фактором, который

может существенным образом влиять на увеличение продолжительности эффекта проведенного лечения, что указывает на необходимость максимально активного использования этого инструмента в клинической практике.

Ключевые слова: рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, лекарственная терапия, клинические исследования

Для цитирования: Моисеенко ФВ, Федянин МЮ, Волков НМ, Абдулоева НХ, Левченко НВ, Чубенко ВА, Жабина АС, Степанова МЛ, Крамчанинов ММ, Артемьева ЕВ, Моисеенко ВМ. Сравнение результатов лечения больных неоперабельным немелкоклеточным раком легкого в рамках клинических исследований и стандартной клинической практики методом псевдорандомизации. Альманах клинической медицины. 2022;50(1):47–55. doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-004.

Поступила 29.10.2021; доработана 20.02.2022; принята к публикации 24.02.2022; опубликована онлайн 10.03.2022

Международные и локальные рекомендации по противоопухолевому лечению разрабатываются на основании результатов клинических исследований. Вне всякого сомнения, наиболее обоснованное сравнение эффективности стандартных и альтернативных подходов возможно лишь при применении всего арсенала методов планирования дизайна клинических исследований и статистического анализа их данных [1]. Следовательно, при обсуждении метода лечения, который предлагается пациенту в конкретной

ситуации, субъективная оценка его эффективности базируется на результатах, полученных при его применении в высокоселективной группе пациентов.

Вопрос о сравнении результатов лечения по данным клинических исследований и в рутинной практике одними из первых подняли Скотт Дэвис и соавт. в статье, опубликованной в журнале Cancer в 1985 г. Проведенный анализ включал 78 пациентов с локализованным немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ), получавших лечение в рамках клинических исследований, и более



Моисеенко Федор Владимирович – д-р мед. наук, доцент, заведующий отделением химиотерапии¹; науч. сотр. научного отдела инновационных методов терапевтической онкологии и реабилитации²; профессор кафедры онкологии хирургического факультета³; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2544-9042>

✉ 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68А, Российская Федерация.
E-mail: moiseenkofv@gmail.com

Федянин Михаил Юрьевич – д-р мед. наук, ст. науч. сотр. онкологического отделения лекарственного лечения (химиотерапевтического) № 2⁴; доцент кафедры онкологии и гематологии факультета непрерывного медицинского образования⁵; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5615-7806>.
E-mail: fedianinmu@mail.ru

Волков Никита Михайлович – канд. мед. наук, начальник отделений химиотерапевтического и радиотерапевтического профиля¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6232-257X>.
E-mail: volkovnm@gmail.com

Абдулова Нуриноса Хамдуллоевна – канд. мед. наук, заведующая амбулаторно-консультативным отделением¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5236-0241>. E-mail: abduloeva-n@mail.ru

Левченко Наталья Валерьевна – канд. мед. наук, заведующая дневным стационаром¹.
Тел.: +7 (812) 573 91 91. E-mail: levch.nv@gmail.com

Чубенко Вячеслав Андреевич – канд. мед. наук, заведующий онкологическим химиотерапевтическим отделением (противоопухолевой лекарственной терапии) солидных опухолей¹. Тел.: +7 (812) 573 91 91.
E-mail: vchubenko@me.com

Жабина Альбина Сергеевна – канд. мед. наук, врач отделения химиотерапии¹; науч. сотр. научного отдела инновационных методов терапевтической онкологии и реабилитации²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9749-8519>. Тел.: +7 (812) 573 91 91.
E-mail: albina_zhabina@inbox.ru

Степанова Мария Леонидовна – науч. сотр. научного отдела¹. Тел.: +7 (812) 573 91 91.
E-mail: stepanovamary1992@gmail.com

Крамчанинов Михаил Михайлович – врач отделения химиотерапии¹. Тел.: +7 (812) 573 91 91.
E-mail: mm90@rambler.ru

Артемова Елизавета Владимировна – врач отделения химиотерапии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9790-4967>. E-mail: mukhina_ev@mail.ru

Моисеенко Владимир Михайлович – д-р мед. наук, профессор, директор¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2246-0441>. E-mail: moiseyenko@gmail.com

¹ ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)»; 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68А, Российская Федерация

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России; 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68, Российская Федерация

³ ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России; 191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41, Российская Федерация

⁴ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава России; 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 23, Российская Федерация

⁵ ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов»; 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6, Российская Федерация

1600 пациентов, среди которых проводился отбор больных со сходными прогностическими факторами [2]. В итоге было показано значительное улучшение выживаемости больных, принимавших участие в клинических исследованиях. На это, по мнению авторов, могли повлиять такие факторы, различающиеся в условиях клинических исследований и реальной практики, как предоперационное стадирование, хирургическая техника, эффект плацебо и степень мотивации пациентов к успеху лечения. Очевидное преимущество клинических исследований над рутинной практикой было подтверждено при сравнении результатов лечения кастрационно-резистентного рака предстательной железы доцетакселом и преднизолоном. Медиана времени до прогрессирования составила 13,6 месяца (95% доверительный интервал (ДИ) 12,1–15,1) в условиях рутинной клинической практики и 20,4 месяца (95% ДИ 17,4–23,4; $p=0,007$) у участников клинических исследований [3]. Вместе с тем на примере адъювантной терапии рака молочной железы было показано, что применение критериев включения, принятых в регистрационных исследованиях,

исключало более 50% пациентов, и этот факт не позволяет результатам в рутинной клинической практике приблизиться к таковым в рафинированных клинических исследованиях [4].

Сегодня с помощью методов статистического анализа можно нивелировать разнородность групп пациентов, которые были отобраны для участия в клинических исследованиях и которым проводили терапию в рамках государственных гарантий оказания гражданам медицинской помощи. Это позволило нам по-новому оценить, имеется ли преимущество в выживаемости, при участии пациента в исследовании с диагнозом НМРЛ на примере одной клиники. Целью настоящего исследования стало сравнение результатов лечения пациентов с НМРЛ в соответствии с текущими клиническими рекомендациями и в рамках международных клинических исследований методом псевдорандомизации (англ. propensity score matching).

Материал и методы

В исследование включены данные о 344 больных с гистологически верифицированным



распространенным нерезектабельным НМРЛ без активирующих мутаций, получавших 1-ю линию системной лекарственной терапии в различных комбинациях (монокимиотерапия, терапия на основе платиновых дуплетов, химиоиммунотерапия, монокимиотерапия) в рамках программы обязательного медицинского страхования (ОМС), и 90 больных, получавших терапию в рамках клинических исследований, проводившихся на базе ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)» в 2018–2019 гг.

Селекция пациентов

В анализ включены две группы пациентов. Первую группу составили пациенты, лечившиеся по ОМС. Характеристика больных этой группы и результаты лечения опубликованы нами ранее [5]. Применялись следующие основные критерии включения:

- наличие гистологически верифицированного неоперабельного НМРЛ, получение 1-й линии терапии в 2018–2019 гг. на базе ГБУЗ «СПб КНПЦ СВМП(о)»;
- ECOG 0–2;
- отсутствие значимой сопутствующей патологии, препятствующей назначению стандартного лечения;
- проведение лечения в соответствии с рекомендациями Российского общества клинической онкологии (RUSSCO, 2018) [6] и клиническими рекомендациями Ассоциации онкологов России (АОР, 2019; <http://www.oncology.ru/association/clinical-guidelines/>). Больные получали монокимиотерапию (пероральный этопозид, винорелбин), платиновые дуплеты (паклитаксел + карбоплатин (ТС) +/- бевацизумаб, цисплатин/карбоплатин + гемцитабин, цисплатин/карбоплатин + пеметрексед, этопозид + цисплатин), иммунохимиотерапию (пембролизумаб + пеметрексед + карбоплатин, пембролизумаб + ТС, атезолизумаб + бевацизумаб + ТС), иммунотерапию (пембролизумаб).

Вторую группу составили пациенты, включенные в международные клинические исследования 1-й линии, которые проходили на базе ГБУЗ «СПб КНПЦ СВМП(о)» в период 2018–2019 гг. Включение проводили независимо от режима лечения, а также варианта сопутствующей иммуно- или таргетной терапии. Так, в 29% исследований не предполагалось использование иммунотерапевтического компонента.

Анализ результатов лечения

В группе стандартного лечения оценку эффективности проведенного лечения осуществляли в соответствии с рутинной клинической практикой, как описано ранее [5]. Выживаемость без прогрессирования на фоне 1-й линии терапии рассчитывали от первого дня первого цикла терапии до регистрации прогрессирования по данным очередной компьютерной томографии, появления клинических признаков прогрессирования заболевания или смерти, если она была констатирована без подтверждения прогрессирования болезни объективными методами.

На первом этапе было проведено прямое сравнение показателей эффективности, в том числе частоты объективных ответов, и моделирование отдаленных результатов лечения (выживаемости без прогрессирования и общей выживаемости) методом Каплана – Мейера для всех больных, включенных в работу.

На втором этапе с целью исключения влияния дисбаланса прогностических факторов был проведен регрессионный анализ в соответствии со следующей методикой. Для формирования сбалансированных когорт мы использовали метод псевдорандомизации (англ. propensity score matching). Склонность к прогрессированию была оценена с помощью логистического регрессионного анализа у каждого конкретного пациента с учетом базовых клинических характеристик – возраст, пол, ECOG, гистологическая форма, поражение регионарных лимфоузлов, наличие отдаленных метастазов, стадия заболевания, метастатическое поражение паренхимы легких, метастатическое поражение плевры, метастатическое поражение костей, метастатическое поражение надпочечников, метастатическое поражение отдаленных лимфоузлов, метастатическое поражение других зон, метастатическое поражение головного мозга, число зон метастазирования, компоненты режима 1-й линии терапии. Пациенты, которым проводили терапию в рамках клинического исследования и которые получали лечение по программе ОМС, были подобраны в отношении 1:1, основываясь на оценке их склонности к прогрессированию с шагом 0,15.

Статистическую значимость различий между номинальными величинами оценивали методом хи-квадрат, для непрерывных величин использовали Т-тест или дисперсионный анализ (ANOVA), для множественных сравнений – с поправкой Бонферрони. Показатели выживаемости исследовали методом Каплана – Мейера, сравнение статистической значимости выявленных

**Таблица 1.** Сравнение клинических характеристик группы больных, получавших лечение в рамках обязательного медицинского страхования, и группы пациентов, включенных в клинические исследования, до и после псевдорандомизации

| Характеристика | До рандомизации | | После рандомизации | |
|---|--------------------------------|--|-------------------------------|--|
| | группа ОМС (n = 344), абс. (%) | группа клинических исследований (n = 90), абс. (%) | группа ОМС (n = 83), абс. (%) | группа клинических исследований (n = 84), абс. (%) |
| Пол | | | | |
| мужчины | 267 (77,6) | 67 (74,4) | 66 (79,5) | 64 (76,2) |
| женщины | 77 (22,4) | 23 (25,6) | 17 (20,5) | 20 (23,8) |
| ЕСОГ, баллы | | | | |
| 0 | 289 (84,0) | 44 (48,9) | 70 (84,3) | 72 (85,7) |
| 1 | 41 (11,9) | 46 (51,1) | 13 (15,7) | 12 (14,3) |
| 2 | 13 (3,8) | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 1 (0,3) | 0 | 0 | 0 |
| Гистологическая форма | | | | |
| аденокарцинома | 287 (83,4) | 70 (77,8) | 66 (79,5) | 64 (76,2) |
| плоскоклеточный рак легкого | 57 (16,6) | 20 (22,2) | 17 (20,5) | 20 (23,8) |
| Средний возраст, годы | | | | |
| | 63,3 | 63,8 | 62,4 | 63,8 |
| Характеристика N | | | | |
| 0 | 47 (13,6) | 0 | 6 (7,3) | 0 |
| 1 | 74 (21,6) | 15 (16,6) | 18 (21,6) | 15 (17,8) |
| 2 | 160 (46,5) | 36 (40,0) | 41 (49,4) | 34 (40,5) |
| 3 | 63 (18,3) | 39 (43,4) | 18 (21,7) | 35 (41,7) |
| Характеристика M | | | | |
| 0 | 39 (11,3) | 12 (13,3) | 29 (34,9) | 12 (14,3) |
| 1 | 305 (88,6) | 78 (86,7) | 54 (65,1) | 72 (85,7) |
| Метастазы в головном мозге до начала терапии | | | | |
| да | 35 (10,1) | 3 (3,3) | 13 (15,6) | 3 (3,6) |
| нет | 309 (89,9) | 87 (96,7) | 70 (84,4) | 81 (96,4) |
| Метастазы в печени до начала терапии | | | | |
| да | 34 (9,9) | 48 (53,3) | 14 (9,9) | 45 (53,6) |
| нет | 310 (90,1) | 42 (46,7) | 69 (90,1) | 39 (46,4) |
| Метастатическое поражение плевры до начала терапии | | | | |
| да | 31 (9,0) | 14 (15,6) | 12 (14,5) | 14 (16,7) |
| нет | 313 (91,0) | 76 (84,4) | 71 (85,5) | 70 (83,3) |
| Метастатическое поражение костей до начала терапии | | | | |
| да | 42 (12,2) | 20 (22,2) | 18 (21,7) | 19 (22,6) |
| нет | 302 (87,8) | 70 (77,8) | 65 (78,3) | 65 (77,4) |



Метастатическое поражение надпочечников до начала терапии

| | | | | |
|-----|------------|-----------|-----------|-----------|
| да | 25 (7,3) | 23 (25,6) | 10 (12,0) | 20 (23,8) |
| нет | 319 (92,7) | 67 (74,4) | 73 (88,0) | 64 (76,2) |

Метастатическое поражение внутригрудных лимфоузлов до начала терапии

| | | | | |
|-----|------------|----------|-----------|----------|
| да | 297 (86,3) | 90 (100) | 69 (83,1) | 84 (100) |
| нет | 47 (13,7) | 0 | 14 (16,9) | 0 |

Метастатическое поражение в других лимфоузлах до начала терапии

| | | | | |
|-----|------------|-----------|-----------|-----------|
| да | 26 (7,6) | 43 (47,8) | 11 (13,3) | 40 (47,6) |
| нет | 318 (92,4) | 47 (52,2) | 72 (86,7) | 44 (52,4) |

ОМС – обязательное медицинское страхование

различий осуществляли методом log-rank. Многофакторный анализ проводили с помощью пошагового регрессионного анализа Кокса в случае изучения выживаемости, или биномиального регрессионного анализа, если речь шла об определенном событии. Статистический анализ проводили с помощью программ статистического пакета SPSS (IBM SPSS Statistics v.20).

Результаты

Проанализированы данные 344 больных с неоперабельным НМРЛ, получавших лекарственную терапию 1-й линии в рамках рутинной клинической практики (1-я группа), и 90 больных, включенных в различные клинические исследования (2-я группа). Клинические характеристики пациентов обеих групп обобщены в табл. 1. Следует особо обратить

внимание на существенные различия в распределении важных прогностических факторов между группами. Так, в группе ОМС было значительно больше пациентов с «идеальным» клиническим статусом – 0 баллов по шкале ECOG (84,0% против 48,9%), а также в ослабленном состоянии – ECOG 2/3 (4,1% против 0). При прямом сравнении результатов проведенного лечения выживаемость без прогрессирования в 1-й группе была значительно ниже, чем во 2-й: 6,4 (95% ДИ 5,9–6,9) и 13,3 месяца (95% ДИ 8,1–18,5) соответственно (рис. 1). В то же время существенных различий в общей продолжительности жизни выявлено не было (рис. 2).

Одним из принципиальных различий между группой, получавшей лечение по программе ОМС, и группой, лечившейся по исследовательским протоколам, было ограничение включения

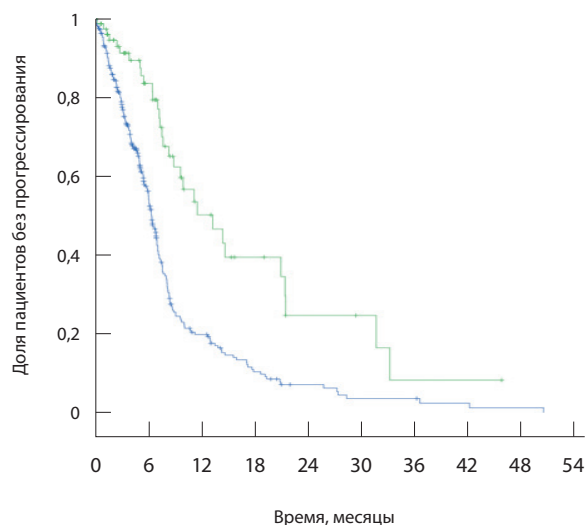


Рис. 1. Моделирование медианы времени до прогрессирования методом Каплана – Мейера. Синяя кривая – группа лечения в рамках обязательного медицинского страхования, зеленая – группа клинических исследований (log-rank $p < 0,000$)

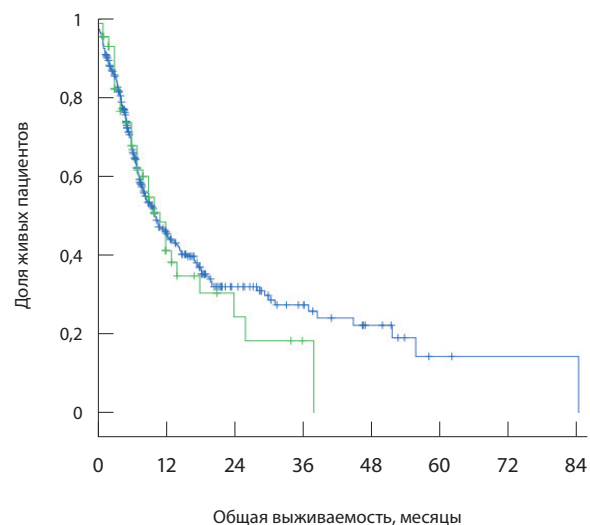


Рис. 2. Моделирование общей выживаемости методом Каплана – Мейера. Синяя кривая – группа лечения в рамках обязательного медицинского страхования, зеленая – группа клинических исследований

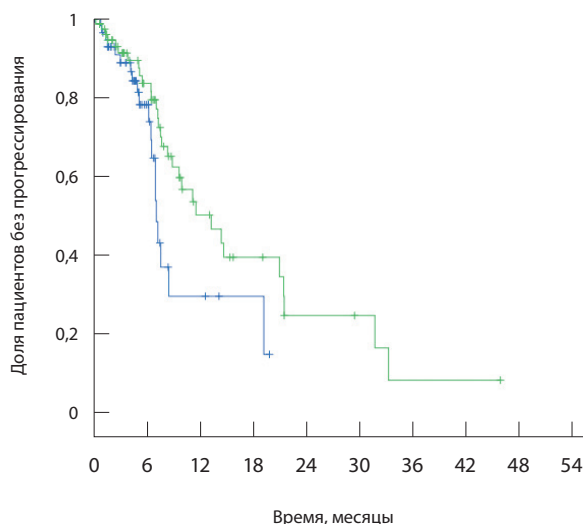


Рис. 3. Моделирование медианы времени до прогрессирования методом Каплана – Мейера для больных с ECOG 0–1 ($p=0,039$). Синяя кривая – группа лечения в рамках обязательного медицинского страхования, зеленая – группа клинических исследований

в исследования больных с ECOG ≥ 2 , так как чаще всего проведение полноценной 1-й линии терапии этим пациентам не показано. В связи с этим нами проведено повторное сравнение отдаленных показателей для больных с ECOG 0–1, в рамках которого были подтверждены сделанные ранее наблюдения о преимущественности группы клинических исследований в медиане времени до прогрессирования: 7,1 месяца (95% ДИ 6,4–7,8) в 1-й группе и 13,3 месяца (95% ДИ 8,1–18,5; $p=0,039$) во 2-й группе (рис. 3).

С целью исключения влияния отдельных факторов на показатели выживаемости нами

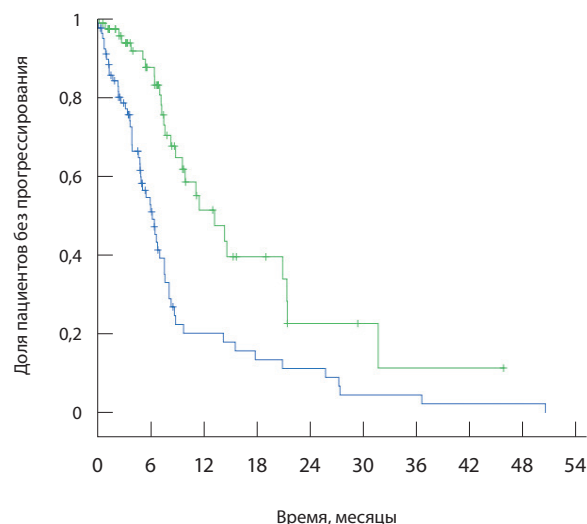


Рис. 4. Моделирование медианы времени до прогрессирования методом Каплана – Мейера для больных с ECOG 0–1 после проведения процедуры псевдорандомизации ($\log\text{-rank } p < 0,000$). Синяя кривая – группа лечения в рамках обязательного медицинского страхования, зеленая – группа клинических исследований

проведен монофакторный регрессионный анализ, результаты которого представлены в табл. 2. Результаты псевдорандомизации пациентов с учетом значимых при монофакторном анализе клинических характеристик приведены в табл. 1. При псевдорандомизации пациентов на основании сочетания статистически значимых показателей из групп ОМС и клинических исследований получено статистически значимо большее время до прогрессирования во 2-й группе по сравнению с 1-й: 13,3 месяца (95% ДИ 8,3–18,3) против 6,3 месяца (95% ДИ 4,8–7,7) (рис. 4).

Таблица 2. Результаты монофакторного регрессионного анализа связи клинических факторов и склонности к прогрессированию

| Переменная | Отношение шансов (95% доверительный интервал) | Значение p |
|--|---|--------------|
| Стадия заболевания | 1,484 (1,295–1,702) | < 0,001 |
| Гистологическая форма | 1,194 (1,001–1,426) | 0,049 |
| Возраст | 0,977 (0,958–0,997) | 0,026 |
| Метастатическое поражение паренхимы легких | 0,814 (0,689–0,962) | 0,016 |
| Поражение регионарных лимфоузлов | 0,606 (0,490–0,750) | < 0,001 |
| Метастатическое поражение печени | 0,541 (0,331–0,887) | 0,015 |
| Метастатическое поражение костей | 0,496 (0,285–0,861) | 0,013 |
| Метастатическое поражение других зон | 0,449 (0,265–0,760) | 0,003 |



Обсуждение и заключение

Немелкоклеточный рак легкого – агрессивное заболевание с медианой выживаемости у неоперабельных пациентов в доиммунотерапевтическую эпоху 12–14 месяцев [6]. Сегодня препараты, относящиеся к классу ингибиторов контрольных точек, интегрированы в клинические рекомендации и реальную практику. На фоне терапии этими препаратами показатели выживаемости возросли до 19–22 месяцев, однако лишь часть больных чувствительна к иммунотерапии. В этой связи для конкретного пациента включение в клинические исследования остается приоритетным вариантом с медицинской точки зрения [7, 8].

В нашем исследовании при прямом сравнении групп пациентов, получавших лечение в рамках ОМС и клинических исследований, обращает на себя внимание несколько важных факторов. Без сомнения, в плане прогноза больные в группе ОМС имели несколько худшие характеристики, чем больные из группы клинических исследований: в рутинной практике противоопухолевое лечение получали больные с ECOG 2–3, в клинические проекты таких пациентов не включали. Данная группа пациентов практически всегда в рамках рутинной практики не получает терапию платиновыми дуплетами. Кроме того, в группе рутинного лечения почти втрое больше пациентов имели до начала лечения поражение головного мозга (10,1% против 3,3%, хи-квадрат $p < 0,001$). Вместе с тем менее значимое в отношении прогноза поражение печени и костей было у большинства больных в группе экспериментального подхода: 53,3% против 9,9% для метастазов в печени (хи-квадрат $p < 0,001$) и 22,2% против 12,2% для метастатического поражения костей (хи-квадрат $p < 0,001$). По-видимому, именно подобное сочетание факторов определяло большее время до прогрессирования в группе клинических исследований – 13,3 месяца (95% ДИ 8,1–18,5) против 6,4 месяца (95% ДИ 5,9–6,9) в группе ОМС. Подчеркнем, что разница при прямом сравнении сохранялась даже в случае исключения из анализа выживаемости больных с ECOG 2–3: 13,3 и 7,1 месяца соответственно ($p = 0,039$).

С целью коррекции дисбаланса в прогностических факторах мы провели псевдорандомизацию. Несмотря на сбалансированность прогностических факторов, медиана выживаемости без прогрессирования у больных, участвовавших в клинических исследованиях, по-прежнему была выше, составив 13,3 месяца (95% ДИ 8,3–18,3) против 6,3 месяца (95% ДИ 4,8–7,7) в группе ОМС. Из данного наблюдения можно сделать несколько выводов. Во-первых, полученные в рамках

клинических исследований результаты, по-видимому, нельзя однозначно экстраполировать на клиническую практику. Во-вторых, можно предположить, что участие в клинических исследованиях позволяет значительно улучшить результаты проводимого лечения. Другим очевидным следствием участия пациентов в клинических исследованиях является соответствующее снижение числа больных, получающих лечение за счет бюджетных средств.

Немаловажно, на наш взгляд, что при выборе стратификационных факторов в их список осознанно не были включены вариант лечения и факт применения ингибиторов контрольных точек, так как значимое число из вошедших в анализ исследований носило рандомизированный, плацебоконтролируемый характер.

Среди ограничений нашего исследования следует отметить отсутствие оценки окончательного влияния снижения дозовой интенсивности лечения по программе ОМС. Несмотря на невозможность учета всех технических различий при проведении одного и того же вида лечения в рамках клинических исследований и в рутинной практике, представляется целесообразным вычлнить неспецифические факторы, влияющие на эффективность лечения. В одной из ранних работ был поднят вопрос о тенденции более активного контроля и несколько более агрессивного лечения для больных, включенных в клинические исследования, в сравнении с больными, соответствовавшими критериям включения, но по разным причинам не включенным в эти исследования [Цит. по [9]; с. 8]. Аналогичные наблюдения сделали авторы работы, в которой изучали лечение нефробластомы у детей, включенных в исследование, а также не включенных в него, но подходивших по критериям включения. Дети, которые были включены в экспериментальную работу, получили большее число циклов химио- и радиотерапии, а также чаще получали лечение в специализированном стационаре [10]. Следует учитывать также и эффект плацебо, воздействие которого на результаты лечения во время клинических исследований, в том числе онкологических, считается доказанным [11].

Таким образом, на основании результатов, полученных в настоящем исследовании, можно заключить: участие в клинических исследованиях является *per se* фактором, который может существенным образом влиять на продолжительность эффекта проведенного лечения, что определяет необходимость максимально активного использования этого инструмента в клинической практике. ©



Дополнительная информация

Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов

Ф.В. Моисеенко – разработка дизайна клинической части исследования, анализ и интерпретация результатов, написание

и редактирование текста; М.Ю. Федянин – анализ и интерпретация результатов исследования; Н.М. Волков, Н.В. Левченко и В.А. Чубенко – редактирование рукописи; Н.Х. Абдулоева, А.С. Жабина, М.Л. Степанова, М.М. Крамчанинов и Е.В. Артемьева – формирование групп пациентов, сбор и обработка материала; В.М. Моисеенко – концепция и дизайн исследования, концепция и дизайн статьи, утверждение итогового варианта текста рукописи. Все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией, согласны нести ответственность за все аспекты работы и гарантируют, что ими надлежащим образом были рассмотрены и решены вопросы, связанные с точностью и добросовестностью всех частей работы.

Литература / References

- Booth CM, Tannock IF. Randomised controlled trials and population-based observational research: partners in the evolution of medical evidence. *Br J Cancer*. 2014;110(3):551–555. doi: 10.1038/bjc.2013.725.
- Davis S, Wright PW, Schulman SF, Hill LD, Pinkham RD, Johnson LP, Jones TW, Kellogg HB Jr, Radke HM, Sikkema WW, Jolly PC, Hammar SP. Participants in prospective, randomized clinical trials for resected non-small cell lung cancer have improved survival compared with nonparticipants in such trials. *Cancer*. 1985;56(7):1710–1718. doi: 10.1002/1097-0142(19851001)56:7<1710::aid-cnrc2820560741>3.0.co;2-t.
- Templeton AJ, Vera-Badillo FE, Wang L, Attalla M, De Gouveia P, Leibowitz-Amit R, Knox JJ, Moore M, Sridhar SS, Joshua AM, Pond GR, Amir E, Tannock IF. Translating clinical trials to clinical practice: outcomes of men with metastatic castration resistant prostate cancer treated with docetaxel and prednisone in and out of clinical trials. *Ann Oncol*. 2013;24(12):2972–2977. doi: 10.1093/annonc/mdt397.
- Srikanthan A, Amir E. Efficacy-effectiveness gap as an obstacle to translating clinical trials to clinical practice. *Eur J Cancer*. 2015;51(8):905–906. doi: 10.1016/j.ejca.2015.03.017.
- Моисеенко ФВ, Волков НМ, Абдулоева НХ, Левченко НВ, Чубенко ВА, Жабина АС, Чер-

Comparison of the treatment results in patients with inoperable non-small cell lung cancer in clinical trials and in standard clinical practice using the pseudorandomization method

F.V. Moiseenko^{1,2,3} • M.Yu. Fedyanin^{4,5} • N.M. Volkov¹ • N.Kh. Abduloeva¹ • N.V. Levchenko¹ • V.A. Chubenko¹ • A.S. Zhabina^{1,2} • M.L. Stepanova¹ • M.M. Kramchaninov¹ • E.V. Artemeva¹ • V.M. Moiseyenko¹

Rationale: Non-small cell lung cancer (NSCLC) is an aggressive disease with median survival of 12–14 months in inoperable patients in the pre-immunotherapy era. Nowadays, under treatment with checkpoint inhibitors median survival is 19–22 months. However, only a proportion of patients are sensitive to immune therapy. In this regard, inclusion into clinical trials remains a priority option for patients from medical perspective.

Aim: To compare the results in NSCLC patients treated in accordance with the current clinical guidelines and in international clinical trials using the propensity score matching.

Materials and methods: The study included data from 344 patients with histologically verified unresectable advanced NSCLC without activating mutations, who received the 1st line systemic medical therapy at various combinations (single agent chemotherapy, platinum doublet-based therapy, chemoimmunotherapy, single agent

immunotherapy) within the compulsory health insurance (CHI), and from 90 patients, who received therapy in clinical trials. A direct comparison of long-term treatment results was carried out with the log-rank method. To exclude any influence of individual factors on survival rates, an univariate regression analysis and pseudorandomization accounting for these factors were carried out.

Results: The direct comparison of the treatment results showed a higher progression-free survival rate in the patients treated according to clinical trial protocols, than in those treated under CHI (13.3 [95% confidence interval (CI) 8.1–18.5] months vs 6.4 [95% CI 5.9–6.9] months). Pseudorandomization of patients based on a combination of statistically significant parameters from the CHI and clinical trial groups showed a significantly longer time to progression in the trial group (13.3 [95% CI 8.3–18.3] vs 6.3 [95% CI 4.8–7.7] months).

Conclusion: Participation in clinical trials is *per se* a factor that can significantly impact the longer duration of the treatment effect. This indicates the necessity of the most active use of this tool in clinical practice.

Key words: lung cancer, non-small cell lung cancer, medical treatment, clinical trials

For citation: Moiseenko FV, Fedyanin MYu, Volkov NM, Abduloeva NK, Levchenko NV, Chubenko VA, Zhabina AS, Stepanova ML, Kramchaninov MM, Artemeva EV, Moiseyenko VM. Comparison of the treatment results in patients with inoperable non-small cell lung cancer in clinical trials and in standard clinical practice using the pseudorandomization method. *Almanac of Clinical Medicine*. 2022;50(1):47–55. doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-004.

Received 29 October 2021; revised 20 February 2022; accepted 24 February 2022; published online 10 March 2022



- нобривцева ВВ, Шугинова ТН, Шелехова КВ, Хенштейн ВА, Степанова МЛ, Крамчанинов ММ, Белухин СА, Хабичева АМ, Артемьева ЕВ, Носова МВ, Тулейко ВМ, Моисеенко ВМ. Результаты применения иммунотерапевтических препаратов при немелкоклеточном раке легкого в реальной клинической практике. Злокачественные опухоли. 2020;10(1):5–20. doi: 10.18027/2224-5057-2020-10-1-5-20. [Moiseenko FV, Volkov NM, Abduloeva NH, Levchenko NV, Chubenko VA, Zhabina AS, Chernobrivceva VV, Shuginova TN, Shelekhova KV, Kheinshtein VA, Stepanova ML, Kramchaninov MM, Belukhin SA, Khabitcheva AM, Artemieva EV, Nosova MV, Tuleyko VM, Moiseyenko VM. Real world efficacy of immunotherapy in nonsmall cell lung cancer. *Malignant tumours*. 2020;10(1): 5–20. Russian. doi: 10.18027/2224-5057-2020-10-1-5-20.]
6. Malhotra B, Evans T, Weiss J, Eaby B, Stonehouse-Lee S, Sherry V, Langer CJ. Carboplatin/pemetrexed/bevacizumab in the treatment of patients with advanced non-small-cell lung cancer: a single-institution experience. *Clin Lung Cancer*. 2010;11(3):192–197. doi: 10.3816/CLC.2010.n.025.
7. Gadgeel S, Rodríguez-Abreu D, Speranza G, Esteban E, Felip E, Dómine M, Hui R, Hochmair MJ, Clingan P, Powell SF, Cheng SY, Bischoff HG, Peled N, Grossi F, Jennens RR, Reck M, Garon EB, Novello S, Rubio-Viqueira B, Boyer M, Kurata T, Gray JE, Yang J, Bas T, Pietanza MC, Garassino MC. Updated Analysis From KEYNOTE-189: Pembrolizumab or Placebo Plus Pemetrexed and Platinum for Previously Untreated Metastatic Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol*. 2020;38(14): 1505–1517. doi: 10.1200/JCO.19.03136.
8. Socinski MA, Nishio M, Jotte RM, Cappuzzo F, Orlandi F, Stroyakovskiy D, Nogami N, Rodríguez-Abreu D, Moro-Sibilot D, Thomas CA, Barlesi F, Finley G, Kong S, Lee A, Coleman S, Zou W, McClelland M, Shankar G, Reck M. IMpower150 Final Overall Survival Analyses for Atezolizumab Plus Bevacizumab and Chemotherapy in First-Line Metastatic Nonsquamous NSCLC. *J Thorac Oncol*. 2021;16(11):1909–1924. doi: 10.1016/j.jtho.2021.07.009.
9. Лактионов КК, Артамонова ЕВ, Бредер ВВ, Горбунова ВА, Моисеенко ФВ, Реутова ЕВ, Сакаева ДД, Смолин АВ, Тер-Ованесов МД. Практические рекомендации по лекарственному лечению немелкоклеточного рака легкого. Злокачественные опухоли: Практические рекомендации RUSSCO #3s2. 2018;8(3 Прилож 2):30–46. doi: 10.18027/2224-5057-2018-8-3s2-30-46. [Laktionov KK, Artamonova EV, Breder VV, Gorbunova VA, Moiseenko FV, Reutova EV, Sakaeva DD, Smolin AV, Ter-Ovanesov MD. Practical recommendations for drug treatment of non-small cell lung cancer. *Malignant Tumors: RUSSCO Practical Guidelines #3s2*. 2018;8(3 Suppl 2):30–46. Russian. doi: 10.18027/2224-5057-2018-8-3s2-30-46.]
10. Stiller CA, Lennox EL. Nephroblastoma in infants, 1969-75: variations in treatment and survival. *Br Med J*. 1980;281(6250):1246–1248. doi: 10.1136/bmj.281.6250.1246.
11. Kienle GS, Kiene H. The powerful placebo effect: fact or fiction? *J Clin Epidemiol*. 1997;50(12):1311–1318. doi: 10.1016/s0895-4356(97)00203-5.

Fedor V. Moiseenko – MD, PhD, Associate Professor, Head of Department of Chemotherapy¹; Research Fellow, Scientific Department of Innovative Methods of Therapeutic Oncology and Rehabilitation²; Professor, Chair of Oncology, Surgical Faculty³; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2544-9042>

✉ 68A Leningradskaya ul., Pesochnyy poselok, Saint Petersburg, 197758, Russian Federation. E-mail: moiseenkofv@gmail.com

Mikhail Yu. Fedyanin – MD, PhD, Senior Research Fellow, Oncological Department of Drug Treatment (Chemotherapeutic) No. 2⁴; Associate Professor, Chair of Oncology and Hematology, Faculty of Continuing Medical Education⁵; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5615-7806>. E-mail: fedyaninmu@mail.ru

Nikita M. Volkov – MD, PhD, Head of Chemotherapy and Radiotherapy Departments¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6232-257X>. E-mail: volkovnm@gmail.com

Nurino Kh. Abduloeva – MD, PhD, Head of Outpatient and Advisory Department¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5236-0241>. E-mail: abduleova-n@mail.ru

Natalya V. Levchenko – MD, PhD, Head of Day Patient Facility¹. Tel.: +7 (812) 573 91 91. E-mail: levch.nv@gmail.com

Vyacheslav A. Chubenko – MD, PhD, Head of Oncology and Chemotherapy Department (Antitumor Drug Therapy)¹. Tel.: +7 (812) 573 91 91. E-mail: vchubenko@me.com

Albina S. Zhabina – MD, PhD, Physician, Department of Chemotherapy¹; Research Fellow, Scientific Department of Innovative Methods of Therapeutic Oncology and Rehabilitation²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9749-8519>. Tel.: +7 (812) 573 91 91. E-mail: albina_zhabina@inbox.ru

Maria L. Stepanova – Research Fellow, Scientific Department¹. Tel.: +7 (812) 573 91 91. E-mail: stepanovamary1992@gmail.com

Mikhail M. Kramchaninov – Physician, Department of Chemotherapy¹. Tel.: +7 (812) 573 91 91. E-mail: mm90@rambler.ru

Elizaveta V. Artemeva – Physician, Department of Chemotherapy¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9790-4967>. E-mail: mukhina_ev@mail.ru

Vladimir M. Moiseyenko – MD, PhD, Professor, Director¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2246-0441>. E-mail: moiseyenko@gmail.com

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interests as per this article.

Authors' contributions

F.V. Moiseenko, design of the clinical part of the study, analysis and interpretation of the results, text writing and editing; M.Yu. Fedyanin, analysis and interpretation of the study results; N.M. Volkov, N.V. Levchenko, V.A. Chubenko, text editing; N.Kh. Abduloeva, A.S. Zhabina, M.L. Stepanova, M.M. Kramchaninov, E.V. Artemeva, patient group recruitment, data collection and management; V.M. Moiseyenko, the study concept and design, the paper concept and design, approval of the final version of the manuscript. All the authors have read and approved the final version of the manuscript before submission, agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

¹ Saint-Petersburg Clinical Scientific and Practical Center for Specialised Types of Medical Care (Oncological); 68A Leningradskaya ul., Pesochnyy poselok, Saint Petersburg, 197758, Russian Federation

² N.N. Petrov National Medicine Research Center of Oncology; 68 Leningradskaya ul., Pesochnyy poselok, Saint Petersburg, 197758, Russian Federation

³ North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov; 41 Kirochnaya ul., Saint Petersburg, 191015, Russian Federation

⁴ N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology; 23 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation

⁵ Peoples' Friendship University of Russia; 6 Miklukho-Maklaya ul., Moscow, 117198, Russian Federation



Оригинальная статья

Анализ выживаемости пациентов с немелкоклеточным раком легкого в Новосибирской области за период 2015–2019 гг.

Чернова Г.Е.¹ • Козлов В.В.^{2,3} • Гуляева Л.Ф.^{1,3}

Чернова Галина Евгеньевна – студентка 6-го курса Института медицины и психологии В. Зельмана¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6949-1202>.
E-mail: chernovagalina154@gmail.com

Козлов Вадим Викторович – канд. мед. наук, заведующий онкологическим отделением № 3²; научный сотрудник³; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3211-5139>.
E-mail: vadimkozlov80@mail.ru

Гуляева Людмила Федоровна – д-р биол. наук, профессор, заведующая кафедрой клинической биохимии Института медицины и психологии В. Зельмана¹; руководитель лаборатории молекулярных механизмов канцерогенеза³; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7693-3777>
✉ 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2/12, Российская Федерация. Тел.: +7 (913) 916 12 72.
E-mail: lfgulyaeva@gmail.com

¹ ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет»; 630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 1, Российская Федерация

² ГБУЗ НСО «Новосибирский областной клинический онкологический диспансер»; 630108, г. Новосибирск, ул. Плахотного, 2, Российская Федерация

³ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики» – структурное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины»; 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2/12, Российская Федерация

Обоснование. Рак легкого занимает лидирующие позиции по показателям смертности среди других злокачественных заболеваний. Во многом это связано с бессимптомным течением болезни и, как следствие, диагностикой на поздних стадиях. Для оптимизации работы онкологической службы Новосибирской области по диагностике, лечению, наблюдению и ведению этой категории больных представляется целесообразным изучить эпидемиологические характеристики немелкоклеточного рака легкого (НМКРЛ) с учетом гистологического типа.

Цель – провести анализ выживаемости пациентов с плоскоклеточным раком легкого (ПКРЛ) и аденокарциномой легкого (АКЛ) в зависимости от возраста, пола и стадии заболевания.

Материал и методы. Проанализированы истории болезни пациентов с диагнозами ПКРЛ (n = 3007) и АКЛ (n = 3049), проходивших лечение в онкологическом диспансере Новосибирской области в 2015–2019 гг. В исследование вошли 4758 мужчин и 1298 женщин, средний возраст выборки составил 68 лет (мужчины – 66,8, женщины – 69,1 года).

Результаты. Большинство (96%) заболевших НМКРЛ были старше 50 лет. Пятилетняя выживаемость пациентов с ПКРЛ и АКЛ была менее 20%. Медиана выживаемости для пациентов с диагнозом ПКРЛ составила 443 дня (25-й – 75-й перцентили: [138–1241]), с диагнозом АКЛ – 552 [107–1511] дня.

В 67% случаев диагноз НМКРЛ впервые установлен на III/IV стадии. Максимальные значения выживаемости (10–15 лет) отмечены для пациентов с НМКРЛ в возрастной группе 61 год и старше, у которых заболевание диагностировано на I–II стадиях. Проверка гипотезы о влиянии гистологического типа НМКРЛ на выживаемость при определенной стадии заболевания (двувыборочный критерий Уилкоксона – Гехана) выявила зависимость выживаемости от гистологического типа только на IV стадии (p = 0,000001); медиана выживаемости при АКЛ IV стадии составила 80 дней, при ПКРЛ IV стадии – 104 дня.

В группе больных ПКРЛ мужчин было 87%, в группе больных АКЛ – 73%. При диагнозе ПКРЛ влияния гендерного признака на медиану выживаемости не выявлено (логарифмический ранговый критерий; p = 0,48). Медиана выживаемости женщин с АКЛ оказалась выше, чем аналогичный показатель у мужчин: 329 дней против 169 дней (логарифмический ранговый критерий; p = 0,000001).

Основная доля пациентов как с ПКРЛ, так и с АКЛ была в возрастной группе 61–75 лет – 59 и 50% соответственно. Наименее благоприятный прогноз отмечен для пациентов младше 50 лет, наиболее благоприятный – для пациентов старше 75 лет. При ПКРЛ медиана выживаемости составила: в возрастной группе до 50 лет – 156 дней, 51–60 лет – 238,5 дня, 61–75 лет – 300 дней, более 75 лет – 487 дней (хи-квадрат 98,77097; df = 3; p = 0,000001); при АКЛ – 143, 201, 210,5 и 230 дней соответственно (хи-квадрат 23,93492; df = 3; p = 0,00003).

Заключение. Анализ выживаемости пациентов с диагнозом ПКРЛ и АКЛ показал, что стадия заболевания и возраст статистически значимо влияют на медиану выживаемости, формируя особенности общей структуры заболеваемости и смертности от НМКРЛ в Новосибирской области.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, стадия, возраст, пол, выживаемость

Для цитирования: Чернова ГЕ, Козлов ВВ, Гуляева ЛФ. Анализ выживаемости пациентов с немелкоклеточным раком легкого в Новосибирской области за период 2015–2019 гг. Альманах клинической медицины. 2022;50(1):56–64. doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-009.

Поступила 14.12.2021; доработана 21.03.2022; принята к публикации 30.03.2022; опубликована онлайн 14.04.2022



Рак легкого занимает второе место в мире в общей структуре онкологических заболеваний (до 11,4%) и характеризуется чрезвычайно высокой смертностью, что во многом обусловлено бессимптомным течением болезни и, как следствие, диагностикой на поздних стадиях. В 2020 г. по данным Международного агентства по изучению рака (англ. International Agency for Research on Cancer, IARC) количество заболевших раком легкого достигло 2,206 млн, а умерших от этого заболевания – 1,796 млн человек (<https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/15-Lung-fact-sheet.pdf>). Наибольшую распространенность рак легкого имеет в странах Азии (особенно в Восточной Азии – 1,012 млн), в Европе (476 тыс.) и Северной Америке (254 тыс.). Меньшие показатели зафиксированы в странах Африки (46,6 тыс.), что связывают с низким уровнем развития медицинского обеспечения и диагностики [1]. В экономически развитых странах заболеваемость раком легкого снижается благодаря активной политике борьбы с курением, а также широкому использованию низкодозной компьютерной томографии в качестве скрининговой технологии [1–6]. Однако смертность при раке легкого по-прежнему остается высокой. В США, например, пятилетняя выживаемость больных немелкоклеточным раком легкого (НМКРЛ) на III–IV стадиях не превышает 10% [2, 7].

В России по данным за 2015–2019 гг. впервые установленный диагноз злокачественного новообразования бронхолегочной системы зарегистрирован у 48,11 ± 1,03 тыс. мужчин и 12,85 ± 0,58 тыс. женщин. Средний прирост заболеваемости злокачественными новообразованиями бронхов, трахеи и легкого в период с 2009 по 2019 г. составил 6,8% на 100 тыс. человек. С учетом данных разных источников кумулятивный риск возникновения рака легкого за эти же годы для обоих полов равен 6,28 ± 1,47% [8–10]. В последние годы в России рак легкого вышел на первое место в структуре общей смертности от злокачественных новообразований: 41,28 ± 0,91 тыс. случаев в год у мужчин и 9,6 ± 0,33 тыс. у женщин, при этом средний возраст умерших от рака легких – 67,06 ± 2,3 года [9, 10]. В Новосибирской области в период с 2015 по 2019 г. выявляемость злокачественных заболеваний трахеи, бронхов и легкого в среднем была 29,41 ± 1,42 на 100 тыс. в год (у мужчин – в среднем 60,7 на 100 тыс., у женщин – 9,77). Средние стандартизованные показатели смертности также высокие: 126,56 ± 2,0 на 100 тыс. населения, при этом для мужчин

выше, чем для женщин, – 185,13 ± 3,28 против 92,24 ± 1,94 на 100 тыс. [9, 10].

Из двух основных гистологических типов рака легкого более распространен НМКРЛ с долей в 80–85%; соответственно, на мелкоклеточный рак легкого приходится около 15% случаев [11, 12]. В свою очередь, среди гистологических типов НМКРЛ наиболее часто выявляют плоскоклеточный рак легкого (ПКРЛ) – от 40 до 50% всех случаев НМКРЛ, при этом ПКРЛ относится к агрессивным формам рака, трудно поддающимся лечению. Еще в 40% случаев НМКРЛ диагностируют аденокарциному легкого (АКЛ) [13]. В последнее время проводятся активные клинико-эпидемиологические и молекулярно-генетические исследования рака легкого, что позволило значительно продвинуться в нашем понимании патогенеза этого заболевания. Исследование эпидемиологических характеристик рака легкого и анализ выживаемости пациентов, в том числе с учетом региональных особенностей, играют важную роль в разработке новых способов диагностики и лечения, а также оптимизации организации онкологической помощи. В данной работе нашей целью было провести анализ выживаемости пациентов с НМКРЛ в зависимости от гистологического типа, а также стадии болезни, возраста и пола на основании данных онкологического диспансера Новосибирской области.

Материал и методы

Проведен ретроспективный анализ данных медицинской документации – историй болезни пациентов, проходивших лечение в онкологическом диспансере Новосибирской области в период с 2015 по 2019 г. с диагнозами ПКРЛ (3007 случаев) и АКЛ (3049 случаев). В исследование вошли 4758 мужчин и 1298 женщин, средний возраст выборок составил 68,02 года (мужчины – 66,87, женщины – 69,17 года).

Исследование проведено в соответствии с этическими принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации. Все пациенты при поступлении в онкологический диспансер Новосибирской области подписали информированное согласие на медицинское вмешательство, а также на использование биометрических и медицинских данных в обезличенной форме в научных целях.

С помощью статистических методов и критериев мы исследовали структуру выживаемости данной категории пациентов, определяли наличие зависимости этого показателя от гистологического типа НМКРЛ, стадии заболевания,

возраста заболевшего, половой принадлежности пациента.

Обработка и подготовка данных проводились в электронных таблицах. Статистическую обработку осуществляли с использованием пакета анализа данных StatSoft, Inc. (2007) и STATISTICA (data analysis software system), version 8.0.

Исследование выживаемости осуществлялось методом множительных оценок Каплана – Мейера, где оценка выживаемости основана на произведении вероятностей выживаемости в настоящий момент времени на вероятность выживаемости в следующий момент времени, когда событие (смерть) не наступило. Соответственно, были сделаны следующие допущения: цензурированные случаи не влияют на прогноз выживаемости; оценки выживаемости одинаковы для данных, включенных на всех временных сроках исследования; оцениваемое событие происходит непосредственно в анализируемый момент времени. Основная математическая функция, непосредственно применяемая в анализе выживаемости, выглядит как произведение отношений вероятностей: в числителе отношения – разница между общим числом случаев и числом наступивших событий, в знаменателе – общее число событий в данный момент. Графики функции выживания, представленной на рисунках, показывают в каждой своей точке кумулятивную вероятность наступления события (летальности) для каждого нецензурированного случая [14, 15]. Для изучения влияния определенного фактора на медиану выживаемости в подгруппах мы использовали непараметрические критерии: логарифмический ранговый, обобщенный Геханом критерий Уилкоксона, многовыборочный критерий хи-квадрат с процедурой Ментела для сравнения времен жизни. При использовании логарифмического рангового критерия были сделаны следующие допущения: выживаемость в группах сравнения одинакова и различия случайны; выбывание в обеих выборках одинаково; функции выживаемости выборок определяются отношением $S_2(t) = [S_1(t)]\Psi$, где Ψ – отношение смертности. Если Ψ равна нулю, выживаемость сравниваемых выборок одинакова и изучаемый фактор влияния не оказывает. Соответственно, при значениях Ψ больше или меньше нуля выживаемость в исследуемых группах больше или меньше относительно друг друга и, таким образом, фактор оказывает значимое влияние.

Тестовая статистика представляет собой отношение суммы разности наблюдаемого и ожидаемого числа событий в определенный момент

времени к сумме дисперсии в каждый определенный момент времени. Данный тест рассчитывался в стандартных процедурах пакета, как описано ранее [15, 16]. Для сравнения выборок по выживаемости, категоризованных в соответствии с изучаемым фактором, также применялся обобщенный критерий Уилкоксона – Гехана. Метод не требует равенства отношения $S_2(t) = [S_1(t)]\Psi$. Идея метода представляет собой сравнение времени жизни пациентов, принадлежащих к разным подгруппам, распределенных с учетом фактора влияния, и присвоении этим разностям значений: -1, 0, +1 – в зависимости от полученного знака разности. Далее, тестовая статистика (Z) представляет собой отношение суммы всех разностей в числителе и стандартную ошибку в знаменателе. Степень отличия от нуля показывает достоверное или недостоверное влияние фактора.

Поскольку в одной группе признака-фактора выживаемость сравнивалась по нескольким подгруппам, основным методом, применяемым в исследовании, был многовыборочный критерий хи-квадрат с процедурой Ментела для сравнения времен жизни, встроенный в пакет анализа. Данный метод представляет собой обобщение нескольких критериев и процедур: логарифмического рангового, критерия Уилкоксона – Гехана, Уилкоксона – Пето. Прежде всего каждому времени жизни рассчитывался его вес (вклад) в общую выживаемость при помощи процедуры Ментеля. Тестовая статистика основывается на расчете отношения суммы квадратов разностей между наблюдаемым весом времени жизни и ожидаемым к оценке дисперсии в знаменателе.

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследования проведен анализ выживаемости больных с НМКРЛ (рис. 1) и отдельно больных с ПКРЛ и АКЛ (рис. 2). Анализ Каплана – Мейера показал, что общая функция выживания больных с НМКРЛ, а также выборок, категоризованных по гистологическому типу, имеет экспоненциальный вид кривых выживаемости, отражающих высокую летальность в первые 5 лет от установления диагноза: 78, 80,04 и 81,52% для НМКРЛ, ПКРЛ и АКЛ соответственно. Виден также достаточно длинный период выживания (свыше 15 лет) для пациентов, диагностированных на I–II стадии, в возрастной категории старше 60 лет (1,56% пациентов с ПКРЛ и 1,05% пациентов с АКЛ). В 67% случаев диагноз НМКРЛ был впервые установлен на III/IV стадии. Двухлетняя выживаемость для пациентов

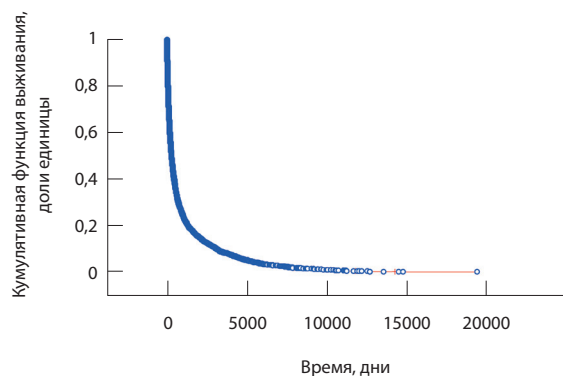


Рис. 1. Общая функция выживания при немелкоклеточном раке легкого. Анализ Каплана – Мейера: переменная – количество дней, переменная с индикатором цензуры – цензура; общее количество наблюдений – 6056, достоверных наблюдений – 6010; без цензурирования – 5703 (94,89%), цензурированные – 307 (5,11%)

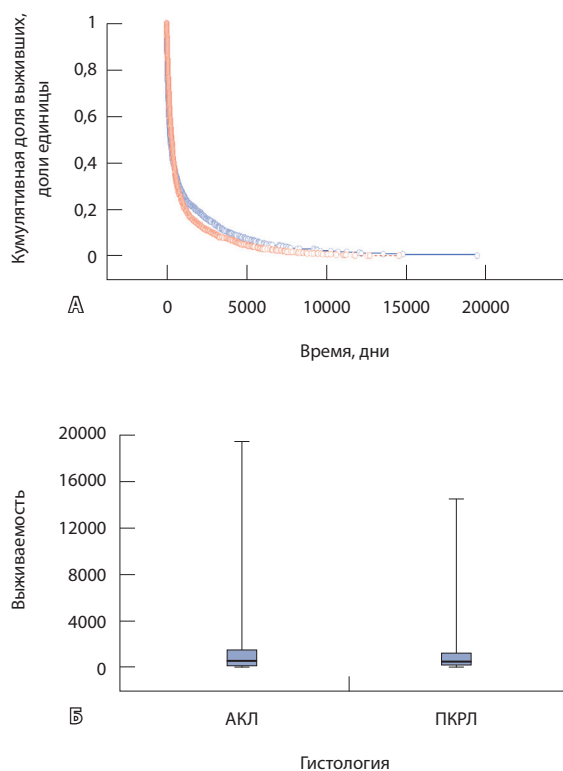


Рис. 2. Общая функция выживания в зависимости от гистологического типа немелкоклеточного рака легкого: **А** – графики функции выживания (анализ Каплана – Мейера), **Б** – коробчатые диаграммы (медиана, 25-й и 75-й перцентили, размах); АКЛ – аденокарцинома легкого, ПКРЛ – плоскоклеточный рак легкого

с ПКРЛ колебалась на уровне 32,67%, с АКЛ – 30,72%. Следует заметить, что медианное значение для всей выборки пациентов было довольно

Таблица 1. Перцентили общей функции выживания при немелкоклеточном раке легкого и в зависимости от гистологического типа (по данным за 2015–2019 гг.)

| Перцентили кумулятивной выживаемости | Среднее значение выживаемости, дни | | |
|--|------------------------------------|--------|--------|
| | НМКРЛ | ПКРЛ | АКЛ |
| 25-й перцентиль (нижний квартиль) | 120,0 | 138,0 | 107,4 |
| 50-й перцентиль (медиана выживаемости) | 486,4 | 443,0 | 552,2 |
| 75-й перцентиль (верхний квартиль) | 1378,1 | 1240,6 | 1511,2 |

АКЛ – аденокарцинома легкого, НМКРЛ – немелкоклеточный рак легкого, ПКРЛ – плоскоклеточный рак легкого

низким и составило 486 дней (табл. 1). При сравнении медианных значений выживаемости для выборок ПКРЛ и АКЛ тестовая статистика показала наличие значимого влияния гистологического типа НМКРЛ на общую выживаемость пациентов (см. рис. 2). Медиана выживаемости пациентов с диагнозом ПКРЛ составила 443 дня при размахе значений от 138 дней (25-й перцентиль) до 1241 дня (75-й перцентиль). Для больных с АКЛ медиана выживаемости оказалась немного выше – 552 дня с соответствующими значениями по нижнему и верхнему квартилям 107 и 1511 дней.

Основная доля выживших (от 25 до 75%) в случае как ПКРЛ, так и АКЛ укладывалась в период 3,4–4,1 года, а размах различался в 1,27 раза. Медианные значения данного показателя отличались на 25%. При анализе зависимости выживаемости от гистологического типа НМКРЛ установлено, что смещение временного ряда ПКРЛ относительно АКЛ достоверно определялось при сравнении между собой подгрупп пациентов, категоризованных по возрастным подгруппам и полу (табл. 2). В этом случае тестовые статистики показали высокую значимость влияния фактора гистологического типа НМКРЛ на выживаемость. Вместе с тем для мужчин оно оказалось не совсем однозначным и статистически значимым было только в категории старше 75 лет ($Z = -3,61254$; $p = 0,00030$). Видимо, на выживаемость мужчин с НМКРЛ в возрасте до 61 года оказывают влияние другие коморбидные факторы, не рассматриваемые в рамках данной работы. Это, в целом, могло изменить общую значимость влияния гистологического типа НМКРЛ на показатели выживаемости мужчин (уровень значимости равен 0,01125), поэтому она была ниже, чем у женщин. У них, в свою очередь, гистологический тип НМКРЛ статистически значимо влиял на выживаемость ($p = 0,00009$), при этом

**Таблица 2.** Сравнение выборок пациентов с плоскоклеточным раком легкого и аденокарциномой легкого критерием хи-квадрат с процедурой Менделя (по данным за 2015–2019 гг.)

| Группы сравнения | Характеристика данных, абс. (%) | Тестовая статистика и уровень значимости |
|-----------------------------------|--|--|
| Группа, категорированная по полу: | | |
| мужчины | Общее количество наблюдений | Z = -2,53470 p = 0,01125 |
| | Общее количество достоверных наблюдений, из них: | |
| | без цензурирования | |
| | цензурированных | |
| женщины | Общее количество наблюдений | Z = 3,926186 p = 0,00009 |
| | Общее количество достоверных наблюдений, из них: | |
| | без цензурирования | |
| | цензурированных | |
| Возрастная группа | | |
| до 50 лет | Общее количество наблюдений | Z = 3,205829 p = 0,00135 |
| | Общее количество достоверных наблюдений, из них: | |
| | без цензурирования | |
| | цензурированных | |
| от 51 до 60 лет | Общее количество наблюдений | Z = 0,4230396 p = 0,67227 |
| | Общее количество достоверных наблюдений, из них: | |
| | без цензурирования | |
| | цензурированных | |
| от 61 до 75 лет | Общее количество наблюдений | Z = -12,0614 p = 0,000001 |
| | Общее количество достоверных наблюдений, из них: | |
| | без цензурирования | |
| | цензурированных | |
| старше 75 лет | Общее количество наблюдений | Z = -6,66636 p = 0,000001 |
| | Общее количество достоверных наблюдений, из них: | |
| | без цензурирования | |
| | цензурированных | |

АКЛ – аденокарцинома легкого, ПКРЛ – плоскоклеточный рак легкого

Переменная – количество дней, вычисленное на основе данных (столбец «Характеристика данных»); переменная с индикатором цензуры – подвергнута цензурированию; группирующая переменная – гистологический тип

в выборке женщин с АКЛ существенно больше (около 30%), чем в выборке женщин с НМКРЛ (всего 12%), что важно для прогноза и тактики лечения. Что касается влияния гистологического типа на медиану выживаемости по возрастным подгруппам, можно говорить о статистически значимой роли этого фактора начиная с возраста 61 год и старше (где уровень значимости равен 0,00001), поскольку доля мужчин в выборке НМКРЛ преобладающая, а летальность для них, как уже предполагалось выше, связана с другими этиологическими факторами (см. табл. 2). Исследование общей выборки НМКРЛ, распределенной по подгруппам в соответствии со стадией заболевания, показало невысокую достоверность влияния гистологического типа на функцию выживания в таких подгруппах (тестовая статистика равна 1,096354 при уровне значимости 0,27292). Проверка гипотезы о влиянии гистологического типа НМКРЛ на выживаемость при определенной стадии заболевания (двухвыборочный критерий Уилкоксона – Гехана) выявила зависимость выживаемости от гистологического типа только на IV стадии (p = 0,000001); медиана выживаемости при АКЛ IV стадии была 80 дней, при ПКРЛ IV стадии – 104 дня.

Таким образом, гистологический тип значимо влияет на выживаемость пациентов с диагнозом ПКРЛ и АКЛ, особенно это важно для пациентов с АКЛ. Общая выживаемость больных НМКРЛ в Новосибирской области сравнима с общероссийскими показателями: 2-летняя выживаемость находится в пределах 30–40%, 5-летняя – 19–20% [2]. Следует отметить, что другие исследователи также рекомендуют анализировать показатели выживаемости пациентов с НМКРЛ по отдельным гистологическим типам [2, 17]. Наши результаты показали, что выживаемость больных ПКРЛ в целом ниже, чем больных АКЛ.

Дальнейшее изучение влияния на выживаемость таких факторов, как стадия заболевания, возраст, пол пациента проводили отдельно для ПКРЛ и АКЛ.

Полученные результаты позволили достоверно разделить каждую выборку ПКРЛ и АКЛ по среднеранжированным показателям выживаемости на 4 подгруппы по клинической стадии: I, II, III и IV (рис. 3). Графики функции выживания в зависимости от стадии заболевания закономерно меняли степень вогнутости и величину размаха от I к IV стадии для обоих вариантов рака легкого. Медиана выживаемости в подгруппах от I к IV стадии имела достоверные различия для ПКРЛ и АКЛ, наблюдалось закономерное

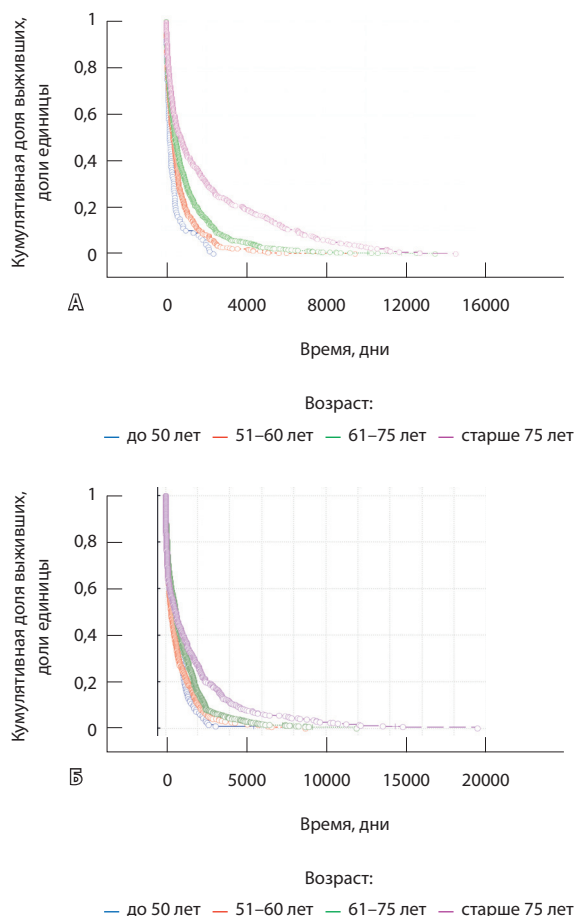


Рис. 3. Общая функция выживания в зависимости от возраста: **А** – при плоскоклеточном раке легкого (данные анализа Каплана – Мейера: общее количество наблюдений – 3007; переменная – количество дней, вычисленное на основе цензурируемых наблюдений; группирующая переменная – возраст; количество достоверных наблюдений – 3006; без цензурирования – 2923 (99,97%); подвергнуто цензурированию – 83 (2,76%); тестовая статистика хи-квадрат = 86,67243, $df = 3$, $p = 0,000001$); **Б** – при аденокарциноме легкого (данные анализа Каплана – Мейера: общее количество наблюдений – 3049; переменная – количество дней, вычисленное на основе цензурируемых наблюдений; группирующая переменная – стадия; количество достоверных наблюдений – 3004; без цензурирования – 2780 (92,54%); подвергнуто цензурированию – 224 (7,46%); тестовая статистика хи-квадрат = 24,15292, $df = 3$, $p = 0,000002$)

уменьшение медианы выживаемости от I к IV стадии. Тестовые статистики (критерий хи-квадрат с процедурой Менгела) подтвердили статистически значимое различие в выживаемости пациентов в зависимости от стадии заболевания.

Как видно из рис. 3, основная доля больных (55–61%) была в диапазоне от 61 до 75 лет, при этом структура выживаемости для ПКРЛ

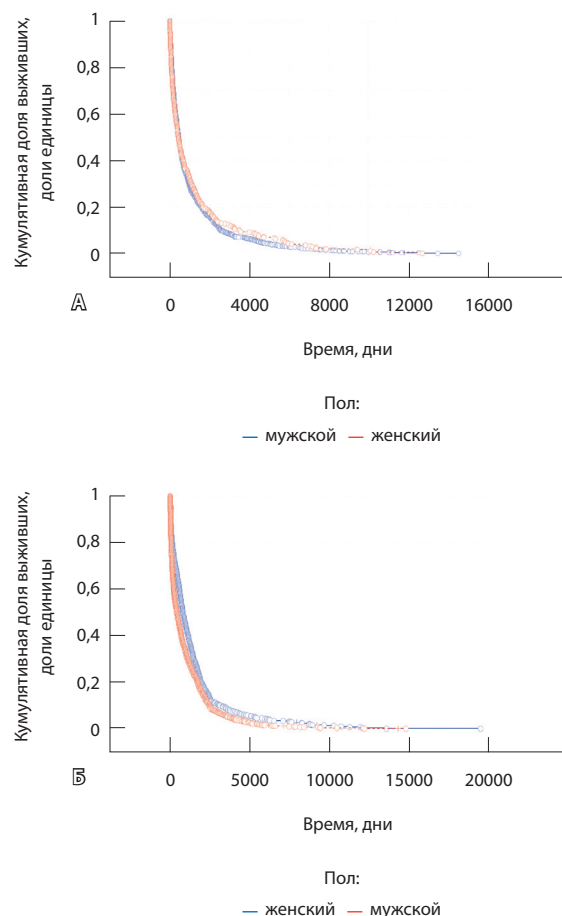


Рис. 4. Общая функция выживания в зависимости от пола: **А** – при плоскоклеточном раке легкого (данные анализа Каплана – Мейера: общее количество наблюдений – 3007; переменная – количество дней, вычисленное на основе цензурируемых наблюдений; группирующая переменная – возраст; количество достоверных наблюдений – 3006; без цензурирования – 2923 (99,97%); подвергнуто цензурированию – 83 (2,76%); тестовая статистика $Z = 0,0098290$, $p = 0,99216$. Влияние фактора «пол» не значимо); **Б** – при аденокарциноме легкого (данные анализа Каплана – Мейера: общее количество наблюдений – 3049; переменная – количество дней, вычисленное на основе цензурируемых наблюдений; группирующая переменная – стадия; количество достоверных наблюдений – 3004; без цензурирования – 2780 (92,54%); подвергнуто цензурированию – 224 (7,46%); тестовая статистика $Z = 7,57835$, $p = 0,000000$)

несколько отличалась от таковой для АКЛ. Наименее благоприятный прогноз отмечен для пациентов младше 50 лет, наиболее благоприятный – для пациентов старше 75 лет. Для ПКРЛ типично монотонное возрастание медианы от младшей возрастной группы (до 50 лет) к группе пациентов старше 75 лет (медиана меняется в 3,9 раза, от 6 месяцев до 2 лет). Показательно,

что максимальные значения выживаемости 10–15 лет характерны для возрастной группы 61 год и старше с ПКРЛ I и II стадий. Для АКЛ наблюдали нелинейное изменение медианы в категоризованных подгруппах. Наибольшие значения медианы отмечены в возрастной группе от 61 до 75 лет (577 дней), наименьшие – в выборке от 51 года до 60 лет (331 день). Необходимо заметить, что существенная доля пациентов в возрасте 51–60 лет имела III или IV стадию заболевания. Если рассматривать более детальную градацию по возрасту – от 30–40-летних к пациентам старше 60 лет – показатель выживаемости изменялся до 6,44 раза для больных ПКРЛ и до 3,35 раза для больных АКЛ, то есть прогноз для более возрастных пациентов на той же стадии развития заболевания благоприятнее. В среднем медиана колебалась от полугода до 4 лет для ПКРЛ и от 11 месяцев до полутора лет для АКЛ. В нашем исследовании основную долю пациентов с диагнозом ПКРЛ и АКЛ составляли люди в возрасте старше 50 лет (97 и 95% соответственно), что близко к общемировым показателям возрастного критерия заболеваемости раком. Например, в США этот показатель составляет 65–80 лет (в среднем 71 год), 90% диагностированных случаев приходится на пациентов старше 55 лет [1, 2].

Анализ выживаемости по половой принадлежности показал неоднозначное распределение влияния данного фактора для пациентов с ПКРЛ и АКЛ. В группе больных ПКРЛ мужчин было 87%, в группе больных АКЛ – 73%. Медиана выживаемости женщин с АКЛ была выше, чем аналогичный показатель у мужчин: 329 дней против 169 дней (логарифмический ранговый критерий; $p = 0,000001$). Для ПКРЛ статистически значимого влияния признака на медиану не выявилось (рис. 4А). Видно, что мужчины и женщины принадлежали к одной выборочной совокупности, медианы выживаемости составляли для мужчин 445 дней, для женщин 414, при этом размах, асимметрия и эксцесс оказались примерно равные. Проверка была осуществлена с помощью логарифмического рангового критерия и критерия хи-квадрат с процедурой Ментеля, контрольная статистика равна 0,0087217 при уровне значимости 0,9256. Таким образом, различий в выживаемости мужчин и женщин с диагнозом ПКРЛ не обнаружено.

Для выборки пациентов с АКЛ медиана выживаемости у женщин была в 2,01 раза выше, чем таковая у мужчин, и составляла 2 года и 1 год соответственно, размах и верхние квартильные

значения показателя выживаемости (75%) так же были в 2,7 раза выше у женщин с данным диагнозом (рис. 4Б). Статистическая значимость влияния фактора половой принадлежности на выживаемость пациентов при АКЛ проверялась логарифмическим ранговым и обобщенным критерием Уилкоксона – Гехана. Таким образом, в обеих выборках доля мужчин с ПКРЛ была значительно ниже, чем доля женщин: 87,81% против 9,21%, тогда как для АКЛ характерна более высокая доля женщин – 30,34%. Эти результаты могут свидетельствовать о роли гормональных факторов в патогенезе рака легких, что следует из современных молекулярно-биологических исследований [18, 19]. Нельзя также исключать роль социально-поведенческих факторов, влияющих на продолжительность жизни в целом, отношения к своему здоровью, различия отягощающих анамнез вредных привычек у мужчин и женщин.

Заключение

В настоящей работе впервые на базе данных пациентов Новосибирской области проведен анализ выживаемости большой выборки больных ($n = 5263$) с НМКРЛ в зависимости от гистологического типа, возраста, пола. Установлено, что медиана выживаемости пациентов с диагнозами ПКРЛ и АКЛ имела низкие значения: 443 и 552,2 дня соответственно. Пятилетняя выживаемость составила 19,96% для ПКРЛ и 18,45% для АКЛ. Фактор возраста играл существенную роль в прогнозе заболевания: наименее благоприятный прогноз характерен для возрастной группы пациентов до 50 лет, в этой группе медиана выживаемости была менее 5 месяцев, тогда как для пациентов старше этого возраста данный показатель возрастал до 2 лет. Поздняя стадия заболевания существенно снижала выживаемость, большинству пациентов (53–58%) диагноз НМКРЛ устанавливался на III/IV стадиях, при этом пациенты в возрасте старше 50 лет составляли 95–97%. В общей структуре заболеваемости доля женщин с диагнозом ПКРЛ (12,37%) была значительно меньше доли мужчин. Доля женщин с диагнозом АКЛ была выше и в среднем составила 30,34%. Женщины с диагнозом АКЛ на 3% раньше диагностировались на I–II стадиях и были на 2–3 года старше мужчин на этих же стадиях заболевания, а функция выживания для них имела более длительный размах: от 2,5 до 16,5 года (25-й и 75-й перцентили). При ПКРЛ различия между полами ни по медиане выживания, ни по размаху статистически не значимы. Таким образом, анализ



выживаемости пациентов с диагнозами ПКРЛ и АКЛ в Новосибирской области за пятилетний период показал, что стадия заболевания и возраст достоверно влияют на медиану

выживаемости. Выявленные особенности позволяют оптимизировать работу онкологической службы Новосибирской области по диагностике НМКРЛ и ведению этой когорты пациентов. ☉

Дополнительная информация

Финансирование

Работа поддержана грантом Российского научного фонда № 22-15-00065.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов

Г.Е. Чернова – концепция и дизайн статьи, подготовка, статистическая обработка и анализ полученных данных, написание текста; В.В. Козлов – концепция и дизайн исследования, сбор данных, анализ результатов, редактирование рукописи; Л.Ф. Гуляева – концепция и дизайн исследования, редактирование текста,

утверждение итогового варианта текста рукописи. Все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией, согласны нести ответственность за все аспекты работы и гарантируют, что ими надлежащим образом были рассмотрены и решены вопросы, связанные с точностью и добросовестностью всех частей работы.

Литература / References

1. Badaev BC, Dela Cruz CS. Lung Cancer 2020: Epidemiology, Etiology, and Prevention. *Clin Chest Med.* 2020;41(1):1–24. doi: 10.1016/j.ccm.2019.10.001.
2. Duma N, Santana-Davila R, Molina JR. Non-Small Cell Lung Cancer: Epidemiology, Screening, Diagnosis, and Treatment. *Mayo Clin Proc.* 2019;94(8):1623–1640. doi: 10.1016/j.mayocp.2019.01.013.
3. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020. *CA Cancer J Clin.* 2020;70(1):7–30. doi: 10.3322/caac.21590.
4. Ardila D, Kiraly AP, Bharadwaj S, Choi B, Reichner JJ, Peng L, Tse D, Etemadi M, Ye W, Corrado G, Naidich DP, Shetty S. End-to-end lung cancer screening with three-dimensional deep learning on low-dose chest computed tomography. *Nat Med.* 2019;25(6):954–961. doi: 10.1038/s41591-019-0447-x.
5. Jonas DE, Reuland DS, Reddy SM, Nagle M, Clark SD, Weber RP, Enyioha C, Malo TL, Brenner AT, Armstrong C, Coker-Schwimmer M, Middleton JC, Voisin C, Harris RP. Screening for Lung Cancer With Low-Dose Computed Tomography: Updated Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force. *JAMA.* 2021;325(10):971–987. doi: 10.1001/jama.2021.0377.
6. Schabath MB, Cote ML. Cancer Progress and Priorities: Lung Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2019;28(10):1563–1579. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-19-0221.
7. Khaltaev N, Axelrod S. Global lung cancer mortality trends and lifestyle modifications: preliminary analysis. *Chin Med J (Engl).* 2020;133(13):1526–1532. doi: 10.1097/CM9.0000000000000918.
8. Федеральная служба государственной статистики (Росстат). Здравоохранение в России 2019: статистический сборник [Интернет]. М.; 2019. 170 с. Доступно на <https://resursor.ru/statisticheskij-sbornik-zdravooxranenie-v-rossii-2019-polnaya-versiya/zdorovye-naseleniya-vzroslye/#1585672725688-c37186b4-8daa>. [Federal State Statistics Service (Rosstat). Public Health Service in Russia 2019: statistical digest [Internet]. Moscow; 2019. 170 p. Russian. Available from: <https://resursor.ru/statisticheskij-sbornik-zdravooxranenie-v-rossii-2019-polnaya-versiya/zdorovye-naseleniya-vzroslye/#1585672725688-c37186b4-8daa>.]
9. Фаттахов ТА, Миронова АА, Пьянкова АИ, Шахзадова АО. Смертность от новообразований в России в 1965–2019: основные структурные изменения и тенденции. *Сибирский онкологический журнал.* 2021;20(4):5–20. doi: 10.21294/1814-4861-2021-20-4-5-20. [Fattakhov TA, Mironova AA, Pyankova AI, Shahzadova AO. Cancer mortality in Russia for the period of 1965–2019: main structural changes and trends. *Siberian Journal of Oncology.* 2021;20(4):5–20. Russian. doi: 10.21294/1814-4861-2021-20-4-5-20.]
10. Каприн АД, Старинский ВВ, Шахзадова АО, ред. Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; 2020. 252 с. [Kaprin AD, Starinskiy VV, Shakhzadova AO. Malignant neoplasms in Russia in 2019 (morbidity and mortality). Moscow: MNI OI im. P.A. Gertsen; 2020. 252 p. Russian.]
11. Christian WJ, Vanderford NL, McDowell J, Huang B, Durbin EB, Absher KJ, Walker CJ, Arnold SM. Spatiotemporal Analysis of Lung Cancer Histological Types in Kentucky, 1995–2014. *Cancer Control.* 2019;26(1):1073274819845873. doi: 10.1177/1073274819845873.
12. Noone AM, Howlader N, Krapcho M, Miller D, Brest A, Yu M, Ruhl J, Tatalovich Z, Mariotto A, Lewis DR, Chen HS, Feuer EJ, Cronin KA (eds). SEER Cancer Statistics Review, 1975–2015. National Cancer Institute. Bethesda, MD: National Cancer Institute; 2018.
13. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(1):7–30. doi: 10.3322/caac.21442.
14. Румянцев ПО, Саенко ВА, Румянцева УВ, Чекин СЮ. Статистические методы анализа в клинической практике. Часть 2. Анализ выживаемости и многомерная статистика. Проблемы Эндокринологии. 2009;55(6):48–56. doi: 10.14341/probl200955648-56. [Rumyantsev PO, Saenko VA, Rumyantseva UV, Chekin SYu. Statistical methods for the analyses in clinical practice. Part 2. Survival analysis and multivariate statistics. *Problems of Endocrinology.* 2009;55(6):48–56. Russian. doi: 10.14341/probl200955648-56.]
15. Гланц С. Медико-биологическая статистика/пер. с англ. М.: Практика; 1998. 459 с. [Glantz SA. Primer of Biostatistics. McGraw-Hill, Health Professions Division; 1997. 473 p.]
16. Реброва ОЮ. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: МедиаСфера, 2000. 312 с. [Statistical analysis of medical data. Using of STATISTICA application program package. Moscow: MediaSfera, 2000. 312 p. Russian.]
17. Wang BY, Huang JY, Chen HC, Lin CH, Lin SH, Hung WH, Cheng YF. The comparison between adenocarcinoma and squamous cell carcinoma in lung cancer patients. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2020;146(1):43–52. doi: 10.1007/s00432-019-03079-8.
18. Бадаев ЕА, Козлов ВВ, Квон ТА, Гуляева ЛФ. Анализ соматических мутаций в гене EGFR у курящих и некурящих больных аденокарциномой легкого. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2019;22(4):35–42. doi: 10.29296/25877313-2019-04-06. [Badaev EA, Kozlov VV, Kvon TA, Gulyaeva LF. The frequency of somatic mutations in EGFR gene in smoking and non-smoking patients with lung adenocarcinoma. *Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry.* 2019;22(4):35–42. Russian. doi: 10.29296/25877313-2019-04-06.]
19. Hsu LH, Chu NM, Kao SH. Estrogen, Estrogen Receptor and Lung Cancer. *Int J Mol Sci.* 2017;18(8):1713. doi: 10.3390/ijms18081713.



Survival analysis of patients with non-small cell lung cancer in Novosibirsk region from 2015 to 2019

G.E. Chernova¹ • V.V. Kozlov^{2,3} • L.F. Gulyaeva^{1,3}

Rationale: Lung cancer is the leader in high mortality rates among other malignancies. This is largely due to the asymptomatic course of the disease and, as a consequence, to its late diagnosis. To optimize the oncology service of the Novosibirsk region in terms of diagnosis, treatment, follow-up and management of this patient category, it seems prudent to study the epidemiological characteristics of non-small cell lung cancer (NSCLC) with consideration of its histologic types.

Aim: To perform the survival analysis in patients with squamous cell lung cancer (SCLC) and adenocarcinoma of the lung (ACL) depending on their age, sex and disease stage.

Materials and methods: We analyzed medical files of patients diagnosed with SCLC (n=3007) and ACL (n=3049) who were treated in the Novosibirsk Regional Oncologic Dispensary from 2015 to 2019. The study included 4758 men and 1298 women (mean age, 68 years; men 66.8 years, women 69.1 years).

Results: The majority (96%) of the NSCLC patients were above 50 years of age. The 5-year survival rate of the patients with SCLC and ACL was below 20%. Median survival of the SCLC patients was 443 days (interquartile range [IQR] 138; 1241), of those with ACL, 552 (IQR 107; 1511) days. At the diagnosis of NSCLC, 67% of the patients had stage III/IV of the disease. Maximal survival (10 to 15 years) was found in the NSCLC patients aged ≥ 61 years who had been diagnosed at stage I–II of the disease. Testing of the hypothesis on the impact of histological type of NSCLC on survival at a particular disease stage (Wilcoxon-Gehan test for unpaired samples) showed an association between the survival and histological type only for stage IV ($p=0.000001$); median survival in ACL IV was 80 days and in SCLC IV, 104 days.

Men comprised 87% of the SCLC group and 73% of the ACL one. In SCLC, there was no gender difference in the median survival rates (log rank test, $p=0.48$). The median survival of the female patients with ACL was longer than that of the male ones (329 vs 169 days, log rank test, $p=0.000001$). The major proportion of the SCLC and ACL patients was in the age range of 61 to 75 years (59% and 50%, respectively). The least favorable outcomes were seen in the patients below 50 years of age, and the most favorable, in those above 75 years. In SCLC, the median survival was 156 days in the patients below 50 years of age, 238.5 days in those aged from 51 to 60 years, 300 days in the age of 61 to 75 years, and 487 days in the patients above 75 years of age (chi-square test 98.77097; $df=3$; $p=0.000001$). In ACL, the respective values were 143, 201, 210.5, and 230 days (chi-square test 23.93492; $df=3$; $p=0.00003$).

Conclusion: The analysis of survival of the patients with SCLC and ACL in the Novosibirsk region has shown that the disease stage and age significantly impact the median survival. These are the characteristic features of the general morbidity and mortality from NSCLC.

Key words: non-small cell lung cancer, stage, age, gender, survival rate

For citation: Chernova GE, Kozlov VV, Gulyaeva LF. Survival analysis of patients with non-small cell lung cancer in Novosibirsk region from 2015 to 2019. Almanac of Clinical Medicine. 2022;50(1):56–64. doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-009.

Received 14 December 2021; revised 21 March 2022; accepted 30 March 2022; published online 14 April 2022

Galina E. Chernova – 6th year student, V. Zelman Institute of Medicine and Psychology¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6949-1202>
E-mail: chernovagalina154@gmail.com

Vadim V. Kozlov – MD, PhD, Head of Oncology Department No. 3²; Research Fellow³; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3211-5139>. E-mail: vadimkozlov80@mail.ru

Lyudmila F. Gulyaeva – Doctor of Biol. Sci., Professor, Head of Chair of Clinical Biochemistry, V. Zelman Institute of Medicine and Psychology¹; Head of Laboratory of Molecular Carcinogenesis³; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7693-3777>
✉ 2/12 Timakova ul., Novosibirsk, 630117, Russian Federation. Tel.: +7 (913) 916 12 72.
E-mail: lfgulyaeva@gmail.com

Funding

The study was financed from the Russian Science Foundation grant No. 22-15-00065.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

Authors' contributions

G.E. Chernova, the paper concept and design, data management and statistical analysis, text writing; V.V. Kozlov, the study concept and design, data collection, analysis of the results, text editing; L.F. Gulyaeva, the study concept and design, text writing, approval of the final version of the manuscript. All the authors have read and approved the final version of the manuscript before submission, agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work have been appropriately investigated and resolved.

¹ Novosibirsk State University; 1 Pirogova ul., Novosibirsk, 630090, Russian Federation

² Novosibirsk Regional Clinical Oncologic Dispensary; 2 Plakhotnogo ul., Novosibirsk, 630108, Russian Federation

³ Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine; 2/12 Timakova ul., Novosibirsk, 630117, Russian Federation



Оригинальная статья

Частота железодефицитной анемии у пациентов с метастатическим колоректальным раком

Жабина А.С.^{1,2} • Моисеенко Ф.В.^{1,2} • Волков Н.М.¹ • Абдулоева Н.Х.¹ • Егоренков В.В.¹ • Левченко Н.В.¹ • Артемьева Е.В.¹ • Степанова Е.О.¹ • Нестерова Е.О.¹ • Моисеенко В.М.¹

Жабина Альбина Сергеевна – канд. мед. наук, врач отделения химиотерапии¹; науч. сотр. научного отдела инновационных методов терапевтической онкологии и реабилитации²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9749-8519>

✉ 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68А, Российская Федерация. Тел.: +7 (812) 573 91 91. E-mail: albina_zhabina@inbox.ru

Моисеенко Федор Владимирович – д-р мед. наук, доцент, заведующий отделением химиотерапии¹; науч. сотр. научного отдела инновационных методов терапевтической онкологии и реабилитации²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2544-9042>

Волков Никита Михайлович – канд. мед. наук, начальник отделений химиотерапевтического и радиотерапевтического профиля¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6232-257X>. E-mail: volkovnm@gmail.com

Абдулоева Нуриноса Хамдуллоевна – канд. мед. наук, заведующая амбулаторно-консультативным отделением¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5236-0241>. E-mail: abduloeva-n@mail.ru

Егоренков Виталий Викторович – канд. мед. наук, заместитель директора по медицинской части¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3473-2053>. E-mail: v.egorenkov@inbox.ru

Левченко Наталья Валерьевна – канд. мед. наук, заведующая дневным стационаром¹. Тел.: +7 (812) 573 91 91. E-mail: levch.nv@gmail.com

Артемьева Елизавета Владимировна – врач отделения химиотерапии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9790-4967>. E-mail: mukhina_ev@mail.ru

Степанова Екатерина Олеговна – врач отделения химиотерапии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9552-9764>. E-mail: ekostepanova@gmail.com

Нестерова Екатерина Олеговна – врач отделения химиотерапии¹. E-mail: katerinakatemils@gmail.com

Моисеенко Владимир Михайлович – д-р мед. наук, профессор, директор¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2246-0441>. E-mail: moiseykov@gmail.com

Актуальность. Железо обладает двойственными свойствами – оно может способствовать как росту опухоли, так и гибели клеток. Раковые клетки по сравнению с нормальными проявляют повышенную зависимость от уровня железа. Ферроптоз можно запустить непосредственно в раковых клетках, что приведет к их самоуничтожению. Путем выявления нарушения баланса железа и его коррекции можно повлиять на эффект специфической терапии у онкологических больных.

Цель – оценить частоту дефицита железа у больных метастатическим колоректальным раком (мКРР), определить связь низкого уровня железа с клинико-морфологическими характеристиками.

Материал и методы. Обследованы 69 нелеченых больных мКРР. Дефицит железа определялся как снижение уровня железа в сыворотке крови, полученной до начала специфической терапии: содержание Fe в сыворотке < 10,7 мкмоль/л для мужчин и < 9,0 мкмоль/л для женщин.

Результаты. Средний возраст пациентов с мКРР был 61,1 года (от 28 до 83 лет), мужчин было 50,7% (35/69). Преобладали опухоли левого фланга – 62,3%. У 48,3% заболевание было выявлено на диссеминированной стадии. Наиболее часто зонами метастазирования были печень

(41,3%) и легкие (32,1%). У 55,1% (38/69) больных первичная опухоль была удалена паллиативно или в ходе первичного радикального лечения. KRAS-мутации выявлены в 37,7%. Низкий уровень железа зарегистрирован у 53,6% (37/69) больных мКРР в общей группе и у 72,4% (19/38) пациентов с неудаленной первичной опухолью ($p=0,05$).

Заключение. Независимо от клинико-морфологических характеристик большинство больных метастатическим колоректальным раком имеют железодефицитную анемию до начала специфической противоопухолевой терапии.

Ключевые слова: железодефицитная анемия, сывороточное железо, метастатический колоректальный рак

Для цитирования: Жабина АС, Моисеенко ФВ, Волков НМ, Абдулоева НХ, Егоренков ВВ, Левченко НВ, Артемьева ЕВ, Степанова ЕО, Нестерова ЕО, Моисеенко ВМ. Частота железодефицитной анемии у пациентов с метастатическим колоректальным раком. Альманах клинической медицины. 2022;50(1):65–70. doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-010.

Поступила 06.01.2022; доработана 04.04.2022; принята к публикации 08.04.2022; опубликована онлайн 14.04.2022

¹ ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)»; 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68А, Российская Федерация

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России; 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68, Российская Федерация

Железодефицитная анемия встречается у 11–57% больных колоректальным раком [1]. Вместе с тем сведения об эпидемиологии дефицита железа у пациентов с метастатическим колоректальным раком немногочисленны, как и исследования, посвященные изучению этой проблемы. Практически отсутствуют данные о связи уровня железа и его коррекции с эффективностью проводимой противоопухолевой лекарственной терапии.

Железо обладает двойственными свойствами – оно может способствовать как росту опухоли, так и гибели клеток. Раковые клетки по сравнению с нормальными проявляют повышенную зависимость от уровня железа [2]. Недавно был открыт ферроптоз – регулируемая форма железо-зависимой гибели клеток. Ферроптоз в отличие от некроза и апоптоза характеризуется накоплением ионов железа и значительным повреждением мембран, опосредованным перекисным окислением липидов [3, 4]. Концепцию ферроптоза в 2012 г. предложили S.J. Dixon и соавт. при использовании эрастина для уничтожения опухолевых клеток с мутацией RAS [3]. Как известно, встречаемость мутации в гене *KRAS* в опухолях толстой кишки составляет от 30 до 60% (<http://www.cancergenome.ru/mutations/RAS/>).

В свете ключевой роли ферроптоза в подавлении опухоли открываются новые возможности в лечении рака. Интересно, что ферроптоз коррелирует с резистентностью к терапии рака, а индукция ферроптоза устраняет резистентность к лекарственным препаратам. Соответственно, воздействуя на ферроптоз, можно изменить эффекты химиотерапии, таргетной терапии или иммунотерапии [5]. Ферроптотические опухолевые клетки стимулируют иммунную систему и увеличивают активацию противоопухолевого иммунитета, способствуя улучшению эффективности противоопухолевой терапии [6].

В последние годы получены многочисленные подтверждения тому, что ферроптоз можно запустить непосредственно в раковых клетках, в большинстве случаев это приводит к их самоуничтожению [7]. Таким образом, повлиять на эффект специфической терапии у онкологических больных можно путем выявления нарушения баланса железа и его коррекции.

Целью настоящей работы была оценка распространенности дефицита железа у больных метастатическим колоректальным раком и выявление связи низкого уровня железа с клинико-морфологическими характеристиками.

Материал и методы

В данной публикации мы представляем предварительные результаты первой части исследования по выявлению дефицита железа у больных метастатическим колоректальным раком. Во второй части будет оценено влияние коррекции дефицита железа на эффективность специфической терапии.

В анализ вошли данные 69 больных метастатическим колоректальным раком, включенных в исследование в случайном порядке и поступивших в период с сентября 2020 по апрель 2021 г. в отделение биотерапии ГБУЗ «СПб КНпЦСВМП(о)» для получения специфического химиотерапевтического лечения. Критерием включения было начало 1-го цикла лечения по поводу метастатического колоректального рака независимо от линии химиотерапии. Всем больным до проведения 1-го цикла данной линии измеряли концентрацию сывороточного железа. Дефицит железа определялся как снижение уровня железа в сыворотке крови, полученной до начала терапии: содержание Fe в сыворотке < 10,7 мкмоль/л для мужчин и < 9,0 мкмоль/л для женщин.

На втором этапе исследования, завершить которое планируется в апреле 2022 г., будет использован двухступенчатый дизайн Саймона. Основная цель этого этапа – оценить связь коррекции дефицита железа с эффектом специфической терапии. В качестве первичной конечной точки выбрано выживание без прогрессирования в течение 6 месяцев (по данным литературы, этот показатель составляет 43% [8]). Альтернативная гипотеза – отсутствие прогрессирования в течение 6 месяцев у 52% пациентов, получающих парентеральные формы железа вместе с химиотерапией.

Работа выполнена в соответствии с этическими принципами проведения биомедицинских исследований, отраженными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации. Все участники исследования подписали добровольное информированное согласие. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом при ГБУЗ «СПб КНпЦСВМП(о)» (протокол № 276 от 11.08.2020).

Размер выборки предварительно не рассчитывался. Статистическая обработка проводилась в программе SPSS17. С целью выделения особенностей группы с наличием дефицита железа до начала лечения был проведен корреляционный анализ.

**Таблица 1.** Частота сниженного уровня железа в зависимости от клинко-морфологических факторов, абс. (%)

| Характеристика | Уровень сывороточного железа | | Значение <i>p</i> | Всего |
|---------------------------------------|---------------------------------------|--|-------------------|------------------------|
| | норма | ниже референсных значений | | |
| Пол | | | | |
| мужской | 17 (47,2) | 18 (54,5) | 0,54 | 35 (50,7) |
| женский | 15 (52,8) | 19 (45,5) | | |
| Средний возраст (мин-макс) | 58,7 года 33 (47,8) | 63,7 года 36 (52,2) | 0,061 | (28–83 г.) 69 (100) |
| Локализация первичной опухоли | | | | |
| правый фланг | 6 (30) | 14 (70) | 0,22 | 26 (37,7) |
| левый фланг | 23 (46,9) | 26 (53,1) | | |
| Глубина инвазии опухоли | | | | |
| T4 | 7 (36,8) | 12 (63,2) | 0,52 | 19 (27,5) |
| T3 | 16 (40) | 24 (60) | | |
| T2 | 6 (60) | 4 (40) | | |
| Степень дифференцировки | | | | |
| low grade | 30 (83,3) | 28 (84,8) | 0,87 | 58 (84,1) |
| high grade | 6 (16,7) | 5 (15,2) | | |
| Наличие первичной опухоли | | | | |
| да | 5 (27,6) | 19 (72,4) | 0,05 | 38 (55,1) |
| нет | 24 (53,3) | 21 (46,7) | | |
| Синхронные метастазы | | | | |
| да | 10 (35,7) | 18 (64,3) | 0,43 | 28 (48,3) |
| нет | 19 (46,3) | 22 (53,7) | | |
| Абсолютное число лимфоцитов, среднее | 1,9 × 10 ⁹ /л 33 (47,2) | 1,57 × 10 ⁹ /л 36 (52,8) | 0,18 | 69 (100) |
| Абсолютное число нейтрофилов, среднее | 4,6 × 10 ⁹ /л 33 (47,2) | 3,25 × 10 ⁹ /л 36 (52,8) | 0,02 | 69 (100) |
| NLR среднее | 3,00 33 (47,2) | 2,49 36 (52,8) | 0,31 | 69 (100) |
| Мутационный статус | | | | |
| KRAS + | 9 (34,6) | 17 (65,4) | 0,76 | 26 (37,7) |
| BRAF + | 2 (40) | 3 (60) | 0,72 | 5 (7,2) |
| MSI-H + | 1 (33,3) | 2 (66,7) | 0,51 | 3 (4,4) |
| KRAS wt, NRAS wt, BRAF wt, MSS | 17 (48,6) | 18 (51,4) | 0,71 | 35 (50,7) |
| Адьювантная терапия | | | | |
| да | 5 (50) | 5 (50) | 0,56 | 10 (14,5) |
| нет | 24 (40,7) | 35 (59,3) | | |
| Метастазы | | | | |
| в печени | 16 (34,6) | 29 (65,4) | 0,23 | 45 (41,3) |
| в брюшине | 7 (41,2) | 10 (58,8) | 0,94 | 17 (15,6) |
| в легких | 13 (37,1) | 22 (62,9) | 0,91 | 35 (32,1) |
| в яичниках | 0 | 4 (100) | 0,46 | 4 (3,66) |
| в костях | 2 (25) | 6 (75) | 0,62 | 8 (7,34) |

**Таблица 2.** Лечебные варианты и эффекты терапии в зависимости от уровня сывороточного железа до начала лечения, абс. (%)

| Параметр | Уровень сывороточного железа | | Значение <i>p</i> | Всего пациентов |
|-------------------|------------------------------|---------------------------|-------------------|-----------------|
| | норма | ниже референсных значений | | |
| 1-я линия терапии | 15 (34,9) | 28 (65,1) | 0,12 | 43 (62,31) |
| 2-я линия терапии | 11 (61,1) | 7 (38,9) | 0,32 | 18 (26,1) |
| 3-я линия терапии | 4 (50) | 4 (50) | 0,43 | 8 (11,59) |
| Схема терапии | | | | |
| FOLFOX | 18 (41,9) | 25 (58,1) | 0,45 | 43 (63,24) |
| FOLFIRI | 11 (50) | 11 (50) | 0,64 | 22 (32,35) |
| антиVEGF | 12 (36,36) | 21 (63,64) | 0,23 | 33 (64,7) |
| антиEGFR | 8 (44,44) | 10 (55,56) | 0,62 | 18 (35,3) |
| иммунотерапия | 1 (33,33) | 2 (66,67) | 0,59 | 3 (4,41) |
| Эффект терапии | | | | |
| PR | 1 (2,8) | 6 (18,2) | 0,21 | 7 (10,1) |
| SD | 13 (36,1) | 10 (30,3) | | 23 (33,3) |
| PD | 3 (8,3) | 3 (9,1) | | 6 (8,7) |
| не оценен | 19 (52,8) | 14 (42,4) | | 33 (47,8) |

PD – прогрессирование заболевания, PR – частичный ответ, SD – стабилизация состояния

Результаты

В табл. 1 представлены клинические особенности включенных в исследование пациентов. Средний возраст составил 61,1 года (от 28 до 83 лет). В исследуемой группе было приблизительно равное число мужчин и женщин (50,7% против 49,3%), преобладали опухоли левого фланга. Практически у половины пациентов заболевание было выявлено на диссеминированной стадии – с синхронными метастазами. Наиболее часто зонами метастазирования были печень ($n = 45$, 41,3%) и легкие ($n = 35$, 32,1%). Важно отметить, что у 55,1% ($n = 38$) больных первичная опухоль была удалена паллиативно или в ходе первичного радикального лечения. С точки зрения молекулярно-генетических особенностей наиболее частым молекулярным нарушением были мутации KRAS (37,7%). Большинство пациентов генетических нарушений не имели (дикий тип – 50,7%). Адьювантную терапию в анамнезе получили 14,5% пациентов.

Уровень сывороточного железа ниже референсных значений зарегистрирован в 53,6% случаев (у 37 пациентов из 69). При монофакторном

анализе (см. табл. 1) статистически значимо более высокая частота анемии была выявлена у пациентов с неудаленной первичной опухолью.

Поскольку включенные в исследование больные получали различные линии и схемы терапии, мы провели оценку клинических параметров пациентов. Эффект специфического лечения на данном этапе анализа оценивался без коррекции уровня железа. Как видно из табл. 2, большинство пациентов с метастатическим колоректальным раком (62,31%) получали первую линию лечения по схеме FOLFOX. Таргетную терапию проводили преимущественно препаратами бевацизумаб и афлиберцепт (64,7%). У 47,8% эффект терапии в настоящее время не оценен. Среди тех пациентов, для которых оценен эффект специфической терапии (без коррекции уровня железа), на момент выполнения анализа преобладала стабилизация процесса (33,3%).

Обсуждение и заключение

Достаточно большое количество исследований посвящено оценке избытка железа как вероятного



триггера онкогенеза, тогда как роль дефицита железа остается малоизученной. Показано негативное влияние дефицита железа на общий статус онкологических пациентов [9]. В нашем исследовании выявлена высокая частота дефицита железа у больных метастатическим колоректальным раком до начала первой линии терапии – 53,6%, что соотносится с результатами других авторов, согласно которым частота анемии у больных колоректальным раком варьирует от 40 до 80% [10].

Мы не установили статистически значимой связи дефицита железа с клинико-морфологическими характеристиками, за исключением наличия первичной опухоли. У пациентов с неудаленной первичной опухолью дефицит железа встречался в 3 раза чаще ($p=0,05$). В 70% случаев недостаток железа регистрировали при правосторонней локализации опухоли и в 53% – при левосторонней, однако различия не были статистически значимыми ($p=0,22$). Вместе с тем в литературе имеются данные о более частом выявлении анемии при правосторонней локализации опухоли. Так, в работе Т.Н. Една и соавт. анемия диагностирована у 74,7% (215/288) больных раком слепой или восходящей ободочной кишки, у 57,1% (48/84) пациентов с раком поперечной

ободочной кишки, у 40,0% (180/300) больных с раком сигмовидной кишки и в 30,5% (114/374) случаях локализации опухоли в прямой кишке [11].

Среди ограничений настоящего исследования следует выделить небольшой размер выборки, что не позволило установить связь дефицита железа с клинико-морфологическими данными и мутационным статусом в каждой линии получаемой терапии.

Клинические исследования у пациентов с онкологическими заболеваниями и дефицитом железа/анемией показывают, что внутривенная терапия препаратами железа улучшает общие результаты лечения [12]. В первой части нашего исследования мы оценили дефицит железа у больных метастатическим колоректальным раком. Наши результаты показали, что независимо от клинико-морфологических характеристик большинство пациентов с метастатическим колоректальным раком имеют сниженный уровень сывороточного железа, следовательно, до начала специфической терапии необходимо проводить его контроль. Изучение уровня железа на фоне противоопухолевой терапии и оценка его корреляции с эффектами на фоне лечения будет продолжено во второй части исследования. ©

Дополнительная информация

Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов

А.С. Жабина и Н.М. Волков – поиск и анализ литературы, обработка исходного материала, написание текста; Ф.В. Моисеенко и В.М. Моисеенко – концепция и дизайн статьи, редактирование текста; Н.Х. Абдулова и Е.О. Степанова – анализ литературы, редактирование текста; В.В. Егоренков и Е.В. Артемьева – анализ литературы, написание

текста; Н.В. Левченко и Е.О. Нестерова – ведение пациентов в стационаре, анализ клинических данных. Все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией, согласны нести ответственность за все аспекты работы и гарантируют, что ими надлежащим образом были рассмотрены и решены вопросы, связанные с точностью и добросовестностью всех частей работы.

Литература / References

- Young CJ, Sweeney JL, Hunter A. Implications of delayed diagnosis in colorectal cancer. *Aust N Z J Surg.* 2000;70(9):635–638. doi: 10.1046/j.1440-1622.2000.01916.x.
- Chen Y, Fan Z, Yang Y, Gu C. Iron metabolism and its contribution to cancer (Review). *Int J Oncol.* 2019;54(4):1143–1154. doi: 10.3892/ijo.2019.4720.
- Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, Skouta R, Zaitsev EM, Gleason CE, Patel DN, Bauer AJ, Cantley AM, Yang WS, Morrison B 3rd, Stockwell BR. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell.* 2012;149(5):1060–1072. doi: 10.1016/j.cell.2012.03.042.
- Stockwell BR, Friedmann Angeli JP, Bayir H, Bush AI, Conrad M, Dixon SJ, Fulda S, Gascón S, Hatzios SK, Kagan VE, Noel K, Jiang X, Linkermann A, Murphy ME, Overholtzer M, Oyagi A, Pagnussat GC, Park J, Ran Q, Rosenfeld CS, Salnikow K, Tang D, Torti FM, Torti SV, Toyokuni S, Woerpel KA, Zhang DD. Ferroptosis: A Regulated Cell Death Nexus Linking Metabolism, Redox Biology, and Disease. *Cell.* 2017;171(2):273–285. doi: 10.1016/j.cell.2017.09.021.
- Zhang C, Liu X, Jin S, Chen Y, Guo R. Ferroptosis in cancer therapy: a novel approach to reversing drug resistance. *Mol Cancer.* 2022;21(1):47. doi: 10.1186/s12943-022-01530-y.
- Wang W, Green M, Choi JE, Gijón M, Kennedy PD, Johnson JK, Liao P, Lang X, Kryczek I, Sell A, Xia H, Zhou J, Li G, Li J, Li W, Wei S, Vatan L, Zhang H, Szeliga W, Gu W, Liu R, Lawrence TS, Lamb C, Tanno Y, Cieslik M, Stone E, Georgiou G, Chan TA, Chinnaiyan A, Zou W. CD8+ T cells regulate tumour ferroptosis during cancer immunotherapy. *Nature.* 2019;569(7755):270–274. doi: 10.1038/s41586-019-1170-y.
- Nie Q, Hu Y, Yu X, Li X, Fang X. Induction and application of ferroptosis in cancer therapy. *Cancer Cell Int.* 2022;22(1):12. doi: 10.1186/s12935-021-02366-0.
- Friedmann Angeli JP, Krysko DV, Conrad M. Ferroptosis at the crossroads of cancer-acquired drug resistance and immune evasion. *Nat Rev Cancer.* 2019;19(7):405–414. doi: 10.1038/s41568-019-0149-1.
- Ludwig H, Müldür E, Endler G, Hübl W. Prevalence of iron deficiency across different tumors and its association with poor performance



status, disease status and anemia. *Ann Oncol.* 2013;24(7):1886–1892. doi: 10.1093/annonc/mdt118.

10. Knight K, Wade S, Balducci L. Prevalence and outcomes of anemia in cancer: a systematic review of the literature. *Am J Med.*

2004;116 Suppl 7A:115–26S. doi: 10.1016/j.amjmed.2003.12.008.

11. Edna TH, Karlsen V, Jullumstrø E, Lydersen S. Prevalence of anaemia at diagnosis of colorectal cancer: assessment of associated risk factors. *Hepatogastroenterol-*

ogy. 2012;59(115):713–716. doi: 10.5754/hge11479.

12. Gao J, Luo T, Wang J. Gene interfered-ferroptosis therapy for cancers. *Nat Commun.* 2021;12(1):5311. doi: 10.1038/s41467-021-25632-1.

Prevalence of iron deficiency anemia in patients with metastatic colorectal cancer

A.S. Zhabina^{1,2} • F.V. Moiseenko^{1,2} • N.M. Volkov¹ • N.Kh. Abduloeva¹ • V.V. Egorenkov¹ • N.V. Levchenko¹ • E.V. Artemeva¹ • E.O. Stepanova¹ • E.O. Nesterova¹ • V.M. Moiseyenko¹

Background: Iron has dual properties: it may promote both tumor growth and cell apoptosis. Compared to healthy cells, cancer cells are more dependent on the iron levels. Ferroptosis can be triggered directly in cancer cells, which would result in their self-destruction. Identification of iron balance abnormalities and their correction could impact the effects of specific treatments in cancer patients.

Aim: To assess the prevalence of iron deficiency in patients with metastatic colorectal cancer (mCRC) and to identify an association of low serum iron levels with clinical and morphological characteristics of the disease.

Materials and methods: The study included 69 treatment-naïve patients with mCRC. Iron deficiency was defined as low serum iron levels before the initiation of any specific therapy: serum iron concentration <10.7 μmol/L in men and <9.0 μmol/L in women.

Results: The mean age of the mCRC patients was 61.1 years (range, 28 to 83 years), 35/69 (50.7%) were men. The bigger proportion of the tumors was left-sided (62.3%). In 48.3% of the patients, the disease was diagnosed at the metastatic stage. The most frequent locations of metastasis were

liver (41.3%) and lungs (32.1%). 55.1% (38/69) of the patients had undergone a non-radical resection or primary curative surgery. KRAS mutations were found in 37.7% of the patients. Low serum iron levels were found in 53.6% (37/69) of the total sample of the mCRC patients and in 72.4% (19/38) of the patients with a non-resected primary tumor ($p=0.05$).

Conclusion: Irrespective on the clinical and morphological characteristics, the majority of patients with metastatic colorectal cancer have iron deficiency anemia before the initiation of specific anti-tumor therapy.

Key words: iron deficiency anemia, serum iron, metastatic colorectal cancer

For citation: Zhabina AS, Moiseenko FV, Volkov NM, Abduloeva NK, Egorenkov VV, Levchenko NV, Artemeva EV, Stepanova EO, Nesterova EO, Moiseyenko VM. Prevalence of iron deficiency anemia in patients with metastatic colorectal cancer. *Almanac of Clinical Medicine.* 2022;50(1):65–70. doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-010.

Received 6 January 2022; revised 4 April 2022; accepted 8 April 2022; published online 14 April 2022

Albina S. Zhabina – MD, PhD, Physician, Department of Chemotherapy¹; Research Fellow, Scientific Department of Innovative Methods of Therapeutic Oncology and Rehabilitation²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9749-8519>

✉ 68A Leningradskaya ul., Pesochnyy poselok, Saint Petersburg, 197758, Russian Federation. Tel.: +7 (812) 573 91 91. E-mail: albina_zhabina@inbox.ru

Fedor V. Moiseenko – MD, PhD, Associate Professor, Head of Department of Chemotherapy¹; Research Fellow, Science Department of Innovative Methods of Therapeutic Oncology and Rehabilitation²; Professor, Chair of Oncology, Faculty of Surgery²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2544-9042>. E-mail: moiseenkofv@gmail.com

Nikita M. Volkov – MD, PhD, Head of Departments of Chemotherapy and Radiotherapy¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6232-257X>. E-mail: volkovnm@gmail.com

Nuriniso Kh. Abduloeva – MD, PhD, Head of Outpatient and Advisory Department¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5236-0241>. E-mail: abduloeva-n@mail.ru

Vitaliy V. Egorenkov – MD, PhD, Deputy Director for Medicine¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3473-2053>. E-mail: v.egorenkov@inbox.ru

Natalya V. Levchenko – MD, PhD, Head of Day Patient Facility¹. Tel.: +7 (812) 573 91 91. E-mail: levch.nv@gmail.com

Elizaveta V. Artemeva – Physician, Department of Chemotherapy¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9790-4967>. E-mail: mukhina_ev@mail.ru

Ekaterina O. Stepanova – Physician, Department of Chemotherapy¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9552-9764>. E-mail: ekostepanova@gmail.com

Ekaterina O. Nesterova – Physician, Department of Chemotherapy¹. E-mail: katerinakatemails@gmail.com

Vladimir M. Moiseyenko – MD, PhD, Professor, Director¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2246-0441>. E-mail: moiseyenkofv@gmail.com

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests.

Authors' contributions

A.S. Zhabina and N.M. Volkov, the literature search and analysis, data management, text writing; F.V. Moiseenko and V.M. Moiseyenko, the paper concept and design, text editing; N.Kh. Abduloeva and E.O. Stepanova, the literature analysis, text editing; V.V. Egorenkov and E.V. Artemeva, the literature analysis, text writing; N.V. Levchenko and E.O. Nesterova, in-patient management of the cases, clinical data analysis. All the authors have read and approved the final version of the manuscript before submission, agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work have been appropriately investigated and resolved.

¹ Saint-Petersburg Clinical Scientific and Practical Center for Specialised Types of Medical Care (Oncological); 68A Leningradskaya ul., Pesochnyy poselok, Saint Petersburg, 197758, Russian Federation

² N.N. Petrov National Medicine Research Center of Oncology; 68 Leningradskaya ul., Pesochnyy poselok, Saint Petersburg, 197758, Russian Federation



Клиническое наблюдение

Клиническое наблюдение уретрального рецидива больших размеров после цистэктомии у пациента с инвазивным раком мочевого пузыря

Балканов А.С.¹ • Виноградов А.В.¹ • Базаев В.В.¹ • Степанова Е.А.¹ • Гармаш С.В.¹

Балканов Андрей Сергеевич – д-р мед. наук, заведующий отделением радиотерапии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1601-9780>. E-mail: andreybalkanov@yandex.ru

Виноградов Александр Владимирович – врач-уролог отделения урологии¹. E-mail: vinogradovdoc@mail.ru

Базаев Владимир Викторович – д-р мед. наук, профессор кафедры урологии факультета усовершенствования врачей¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5421-8900>
✉ 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2–15, Российская Федерация. Тел.: +7 (916) 346 97 89. E-mail: vvbazaev@rambler.ru

Степанова Елена Александровна – канд. мед. наук, заведующая отделом лучевой диагностики¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9037-0034>. E-mail: stepanovamoniki@gmail.com

Гармаш Сергей Владимирович – канд. мед. наук, вед. науч. сотр. отделения урологии¹. E-mail: 89262343904@mail.ru

После выполнения цистэктомии рецидив инвазивного рака мочевого пузыря (иРМП) в области уретры наблюдается не чаще, чем в 6% случаев. В нашем клиническом наблюдении у мужчины 38 лет через 15 месяцев после радикальной (R0) цистэктомии по поводу pT4aN0M0 иРМП при проведении магнитно-резонансной томографии выявлено объемное образование (103×38 мм) в проксимальном сегменте уретры. Клиническая картина уретрального рецидива характеризовалась уретроррагией и приапизмом, который сопровождался выраженным болевым синдромом. Через 3 месяца после хирургического лечения уретрального рецидива и последующей химиотерапии обнаружены отдаленные метастазы в легких, печени и костях, обусловившие гибель пациента через 5 месяцев после пенэктомии. Данное клиническое наблюдение указывает на то, что после

радикальной цистэктомии возникновение уретрального рецидива иРМП больших размеров может стать причиной стремительного отдаленного метастазирования.

Ключевые слова: инвазивный рак мочевого пузыря, цистэктомия, уретральный рецидив, отдаленное метастазирование

Для цитирования: Балканов АС, Виноградов АВ, Базаев ВВ, Степанова ЕА, Гармаш СВ. Клиническое наблюдение уретрального рецидива больших размеров после цистэктомии у пациента с инвазивным раком мочевого пузыря. Альманах клинической медицины. 2022;50(1):71–75. doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-011.

Поступила 20.12.2022; доработана 01.04.2022; принята к публикации 11.04.2022; опубликована онлайн 19.04.2022

¹ ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»; 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2, Российская Федерация

В мире стандартизованная по возрасту заболеваемость раком мочевого пузыря (по данным на 2018 г.) составляет 9,6 случая на 100 000 мужского населения и 2,4 случая на 100 000 женского населения, при этом в Европе и Северной Америке этот показатель возрастает до 20 и 4,5 случая соответственно [1]. Возраст более 90% больных раком мочевого пузыря превышает 55 лет. В 20% случаев рак мочевого пузыря имеет инвазивный компонент [2]. Безрецидивная выживаемость при стадии инвазивного рака

мочевого пузыря (иРМП) T3 не превышает 18 месяцев, а T4 – 11 месяцев [3], при N1–2 равна 1,3 года (пятилетняя канцерспецифическая выживаемость у таких пациентов составляет всего 39,4%) [4]. Наиболее эффективным методом лечения иРМП считается цистэктомия (ЦЭ). Уровень смертности от рака мочевого пузыря, обусловленной отдаленным метастазированием (прогрессированием) в кости (24,7%), легкие (19,4%) и печень (18,1%) [5, 6], составляет 3,2 случая на 100 000 мужского населения и 0,9 на 100 000 женского [1].

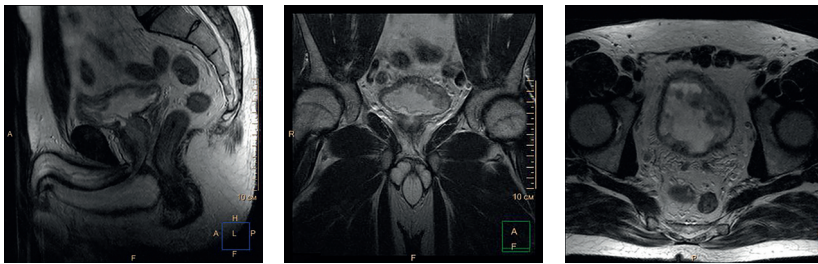


Рис. 1. На серии томограмм малого таза в режимах T2 и T2 в режиме Stir в сагиттальной, коронарной и аксиальной проекциях определяется диффузное опухолевое поражение мочевого пузыря, стенка с признаками инвазии мышечного слоя. Регионарные лимфатические узлы без признаков поражения

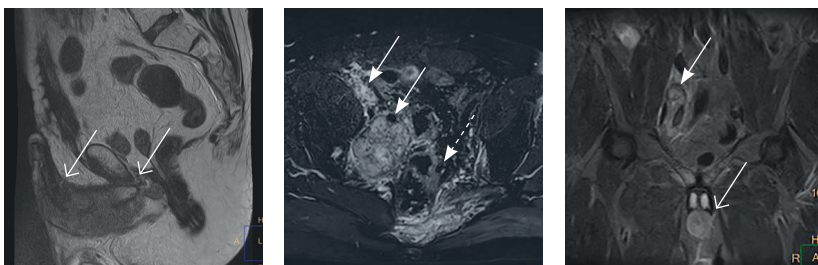


Рис. 2. Магнитно-резонансная томограмма малого таза, после радикальной цистпростатэктомии. Прогрессирование заболевания: множественные метастазы в подвздошные лимфоузлы (сплошные стрелки), пресакральную клетчатку и боковые массы крестца слева (пунктирная стрелка), а также вторичное поражение губчатой части мочеиспускательного канала на значительном протяжении с инвазией губчатого и пещеристых тел (открытые стрелки)

Уже в первые 2 года после ЦЭ локорегионарный рецидив и/или прогрессирование диагностируются у 60% пациентов. Только локорегионарный рецидив выявляется у 20–33% таких пациентов, локорегионарный рецидив в сочетании с прогрессированием – еще у 27% [3]. После ЦЭ локорегионарный рецидив иРМП в области уретелия мочеточника, почечной лоханки и уретры возникает в 13,7–23,5% случаев [5, 6]. Рецидив только в области уретры (уретральный рецидив – УР) диагностируется у 0,8–6,1% пациентов через 13,3 месяца после ЦЭ [7, 8].

В немногочисленных публикациях приведены данные, согласно которым наиболее значимое негативное влияние на выживаемость пациентов с иРМП при возникновении УР наблюдается только в случае развития соответствующего симптомокомплекса, что косвенно свидетельствует о наличии в УР инвазивного компонента [8, 9]. Мы представляем клиническое наблюдение стремительного паренхиматозного метастазирования у молодого пациента с УР больших размеров после выполнения ЦЭ по поводу иРМП, развитие которого сопровождалось уникальной симптоматикой, обусловленной глубокой инвазией.

Клиническое наблюдение

Пациент 3. мужского пола 38 лет. Появление гематурии отметил в январе 2019 г. При магнитно-резонансной томографии (МРТ) малого таза обнаружена опухоль в области дна и тела мочевого пузыря размером 65×25 мм с наличием инвазивного компонента (рис. 1). Пациенту выполнена цистоскопия с ТУР-биопсией – диагностирована инвазивная уротелиальная карцинома с распространением на шейку мочевого пузыря. В урологическом отделении ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского 24.07.2019 выполнена цистпростатвезикулэктомия с двусторонней регионарной (подвздошные и obturatorные лимфоузлы) лимфодиссекцией и последующей гетеротопической реконструкцией мочевого резервуара по Брикеру.

Гистологическое исследование операционного материала подтвердило наличие уротелиальной карциномы мочевого пузыря высокой степени злокачественности (G3) без признаков сосудистой и периневральной инвазии с инвазией не только мышечного слоя, но и паравезикальной жировой клетчатки, паренхимы обеих долей предстательной железы. Опухолевой инвазии в краях резекции не обнаружено. Морфологических признаков метастатического поражения регионарных лимфоузлов не установлено.

С учетом клинических и морфологических данных у пациента 3. диагностирован инвазивный рак мочевого пузыря pT4aN0M0 G3. От дальнейшего лечения пациент воздержался.

Через 10 месяцев после ЦЭ (18.05.2020) при МРТ малого таза (рис. 2) по ходу наружных подвздошных сосудов слева обнаружено мягкотканное образование размером до 92 мм, накапливающее контрастный препарат, с деструкцией левых отделов крестца (до 52 мм) в месте его прилегания к вышеуказанному образованию. С диагнозом регионарного рецидива в зоне подвздошных лимфоузлов с 06.07.2020 по 21.08.2020 пациенту проведена дистанционная лучевая терапия только на область подвздошных лимфоузлов слева до суммарной очаговой дозы 57,5 Гр с одновременной химиотерапией цисплатином.

23.10.2020 (через 15 месяцев после ЦЭ) в связи с жалобами на уретроррагию и приапизм, который сопровождался выраженным болевым синдромом, выполнена МРТ малого таза. Диагностирован УР размером 103×38 мм в границах проксимального отдела полового члена (область губчатого сегмента уретры) с инвазией кавернозных тел (см. рис. 2). 03.12.2020 выполнена ампутация полового члена. В послеоперационном периоде болевой синдром полностью регрессировал.

Через 4 недели после пенэктомии пациенту назначена лекарственная противоопухолевая химиотерапия. Однако уже через 2 месяца после ее начала обнаружены отдаленные метастазы в паренхиму легких

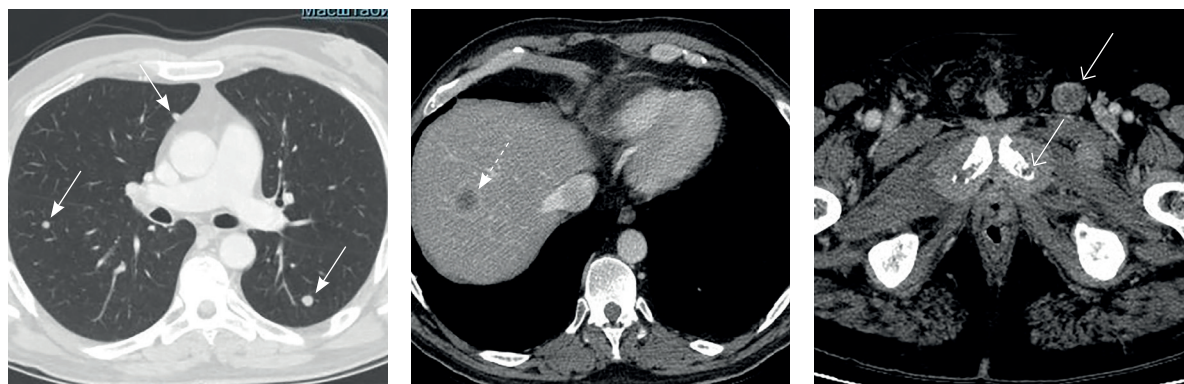


Рис. 3. Компьютерная томограмма грудной клетки, брюшной полости и малого таза. Дальнейшее прогрессирование заболевания: метастазы в легочную ткань (сплошные стрелки), паренхиму печени (пунктирная стрелка), лонные кости и паховые лимфатические узлы (открытые стрелки)

и печень, в кости таза и лимфатические узлы паховой области (рис. 3). Назначена 2-я линия лекарственной противоопухолевой терапии. Несмотря на проводимую терапию, 12 мая 2021 г. (через 22 месяца после ЦЭ и через 5 месяцев после пенэктомии) зафиксирована смерть пациента.

Обсуждение

После ЦЭ рецидив в области уретерия диагностируют у 3,8–12,98% пациентов с иРМП [3, 4]. Моноклональная теория предполагает развитие такого рецидива как следствие распространения опухолевых клеток из первичной опухоли с током мочи (имплантационный метастаз). Не исключается и автономное возникновение метастатических очагов опухолевого роста на различных участках уретерия [10].

В области верхних отделов мочевыводящей системы (мочеточник, лоханка) рецидив после ЦЭ выявляется у 3,9–6,4% пациентов обычно через 24–36 месяцев после ЦЭ [5, 6]. УР диагностируется чуть раньше – через 13,3 месяца у 0,8–6,1% пациентов [7, 8]. Негативными факторами возникновения УР считают распространение иРМП на простатическую уретру/шейку мочевого пузыря, большой размер опухоли, мультифокальный характер роста опухоли, ожирение, низкую дифференцировку опухоли и позитивный край резекции после ЦЭ [7–13].

Несмотря на то что наиболее эффективным методом выявления локорегионарного рецидива/прогрессирования у пациентов с иРМП считается ^{18}F FDG-ПЕТ/КТ [5], для диагностики регионарного метастазирования допускается использование как компьютерной, так и магнитно-резонансной томографии. МРТ, в частности, позволяет диагностировать регионарное

лимфогенное метастазирование в 76% случаев [14]. Наше наблюдение также подтверждает высокую эффективность использования МРТ для диагностики УР после ЦЭ. Именно МРТ позволило корректно установить размеры УР и верифицировать наличие глубокого инвазивного компонента, обусловившего уникальную клиническую картину, включающую приапизм и выраженный болевой синдром. Следует отметить, что среди наиболее частых симптомов УР – выделение из уретры, кровотечение, которые наблюдаются в 27,7–44,7% случаев – приапизм не упоминается [8].

Считается, что характер реконструктивного этапа после ЦЭ оказывает существенное влияние на риск УР. Так, после гетеротопической реконструкции по Брикеру УР возникает лишь в 2,1% случаев [8, 9, 11, 12]. В нашем наблюдении УР диаметром более 10 см диагностирован в стандартные сроки его выявления – через 15 месяцев после хирургического лечения. Наш пример наглядно показал: не следует полагаться на то, что выполнение гетеротопической реконструкции по Брикеру после ЦЭ у пациентов с распространением иРМП pT4a на шейку мочевого пузыря станет гарантом снижения риска УР. Наиболее эффективным адъювантным методом в похожей клинической ситуации, направленным на снижение риска УР, должна стать адъювантная лучевая терапия даже в отсутствие морфологических признаков опухолевой инвазии в краях резекции (R0) и лимфогенного метастазирования (N0) [15]. В нашем случае отказ от такого подхода стал причиной возникновения локорегионарного рецидива (в сроки от 10 до 15 месяцев после ЦЭ), в том числе и в проксимальном сегменте уретры.

В настоящем клиническом наблюдении также обращает на себя внимание короткий временной интервал с момента выполнения хирургического лечения УР и появления признаков отдаленного метастазирования, приведшего к гибели пациента. По данным литературы, в случае бессимптомного течения пятилетняя выживаемость у таких пациентов значительно выше, чем при наличии симптомов, – 80 и 41% соответственно [8, 16, 17]. Установлено, что инвазивный характер роста опухоли диагностируется у 95% пациентов, имеющих симптомы УР, и только у 27,6% в отсутствие симптомов [8, 9]. И у нашего пациента наличие симптомов УР было неблагоприятным фактором снижения выживаемости после ЦЭ. Отмеченный в нашем клиническом наблюдении приапизм, обусловленный глубокой инвазией УР в подлежащие ткани, может в определенных обстоятельствах рассматриваться как самостоятельный предиктор стремительного развития отдаленного метастазирования и гибели пациента.

Предпочтительным методом лечения рецидива уротелиальной карциномы в области уретры считается уретрэктомия [8]. В нашем примере значительные размеры образования и глубокая инвазия УР исключали возможность использования уретрэктомии, а наличие выраженного

болевого синдрома, обусловленного приапизмом, не позволило использовать методики лечения с отсроченным клиническим эффектом (лучевая терапия/химиотерапия). В итоге безальтернативным методом лечения у данного пациента стала ампутация полового члена, приведшая к полной регрессии болевого синдрома. Считаем, что выбранная тактика лечения при УР больших размеров с вышеописанным симптомокомплексом может служить примером эффективного лечения, повышающего качество жизни пациентов за счет купирования болевого синдрома, но не оказывающего влияния на выживаемость.

Заключение

На примере нашего клинического наблюдения мы хотели акцентировать внимание на том, что высокий риск развития УР после радикальной (R0) цистэктомии при иРМП T4N0M0 даже при использовании гетеротопической реконструкции мочевого резервуара по Брикеру определяет необходимость назначения адъювантной лучевой терапии. Рецидив уротелиальной карциномы больших размеров с глубокой инвазией в ткани полового члена может иметь такое клиническое проявление, как приапизм. Уретральный рецидив может стать причиной стремительного отдаленного метастазирования и гибели пациента. ☺

Дополнительная информация

Согласие пациента

Пациент подписал информированное согласие на использование его медицинских данных в научных целях.

Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов

А.С. Балканов – концепция статьи, написание текста; А.В. Виноградов и С.В. Гармаш – ведение пациента в стационаре, анализ клинического материала; В.В. Базаев – интерпретация клинического материала, редактирование текста, утверждение финального варианта текста рукописи; Е.А. Степанова – интерпретация клинического материала, подготовка рисунков. Все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией, согласны нести ответственность за все аспекты работы и гарантируют, что ими надлежащим образом были рассмотрены и решены вопросы, связанные с точностью и добросовестностью всех частей работы.

Литература / References

1. Richters A, Aben KKH, Kiemeny LALM. The global burden of urinary bladder cancer: an update. *World J Urol.* 2020;38(8):1895–1904. doi: 10.1007/s00345-019-02984-4.
2. Ploeg M, Aben KK, Kiemeny LA. The present and future burden of urinary bladder cancer in the world. *World J Urol.* 2009;27(3):289–293. doi: 10.1007/s00345-009-0383-3.
3. Anghel RM, Gales LN, Trifanescu OG. Outcome of urinary bladder cancer after combined therapies. *J Med Life.* 2016;9(2):153–159.
4. Frank I, Chevillat JC, Blute ML, Lohse CM, Nehra A, Weaver AL, Karnes RJ, Zincke H. Transitional cell carcinoma of the urinary bladder with regional lymph node involvement treated by cystectomy: clinicopathologic features associated with outcome. *Cancer.* 2003;97(10):2425–2431. doi: 10.1002/cncr.11370.
5. Öztürk H, Karapolat I. Efficacy of 18F-fluorodeoxyglucose-positron emission tomography/computed tomography in restaging muscle-invasive bladder cancer following radical cystectomy. *Exp Ther Med.* 2015;9(3):717–724. doi: 10.3892/etm.2015.2187.
6. Bianchi M, Roghmann F, Becker A, Sukumar S, Briganti A, Menon M, Karakiewicz PI, Sun M, Noldus J, Trinh QD. Age-stratified distribution of metastatic sites in bladder cancer: A population-based analysis. *Can Urol Assoc J.* 2014;8(3–4):E148–E158. doi: 10.5489/auaj.787.
7. Gakis G, Black PC, Bochner BH, Boorjian SA, Stenzl A, Thalmann GN, Kassouf W. Systematic Review on the Fate of the Remnant Urothelium after Radical Cystectomy. *Eur Urol.* 2017;71(4):545–557. doi: 10.1016/j.eururo.2016.09.035.
8. Boorjian SA, Kim SP, Weight CJ, Chevillat JC, Thapa P, Frank I. Risk factors and outcomes of urethral recurrence following radical cystectomy. *Eur Urol.* 2011;60(6):1266–1272. doi: 10.1016/j.eururo.2011.08.030.
9. Balci U, Dogantekin E, Özer K, Görgel SN, Gircin C, Dinçel Ç. Patterns, risks and outcomes



- of urethral recurrence after radical cystectomy for urothelial cancer; over 20 year single center experience. *Int J Surg.* 2015;13:148–151. doi: 10.1016/j.ijisu.2014.12.006.
10. Denzinger S, Mohren K, Knuechel R, Wild PJ, Burger M, Wieland WF, Hartmann A, Stoehr R. Improved clonality analysis of multifocal bladder tumors by combination of histopathologic organ mapping, loss of heterozygosity, fluorescence in situ hybridization, and p53 analyses. *Hum Pathol.* 2006;37(2):143–151. doi: 10.1016/j.humpath.2005.10.014.
 11. Li X, Wang W, Zhu G, He W, Gou X. Risk factors, follow-up, and treatment of urethral recurrence following radical cystectomy and urinary diversion for bladder cancer: a meta-analysis of 9498 patients. *Oncotarget.* 2017;9(2):2782–2796. doi: 10.18632/oncotarget.23451.
 12. Lee DH, Song W. Risk Factors for Urethral Recurrence in Men After Radical Cystectomy with Orthotopic Urinary Diversion for Urothelial Carcinoma: A Retrospective Cohort Study. *Cancer Manag Res.* 2020;12:6739–6746. doi: 10.2147/CMAR.S260979.
 13. Liu Z, Zhang X, Wu B, Zhao Y, Bai S. Development and Validation of a Model for Predicting Urethral Recurrence in Male Patients with Muscular Invasive Bladder Cancer After Radical Cystectomy Combined with Urinary Diversion. *Cancer Manag Res.* 2020;12:7649–7657. doi: 10.2147/CMAR.S261809.
 14. Frączek M, Kamecki H, Kamecka A, Sosnowski R, Sklinda K, Czarniecki M, Królicki L, Waldecki J. Evaluation of lymph node status in patients with urothelial carcinoma—still in search of the perfect imaging modality: a systematic review. *Transl Androl Urol.* 2018;7(5):783–803. doi: 10.21037/tau.2018.08.28.
 15. Baumann BC, Bosch WR, Bahl A, Birtle AJ, Breau RH, Challapalli A, Chang AJ, Choudhury A, Daneshmand S, El-Gayed A, Feldman A, Finkelstein SE, Guzzo TJ, Hilman S, Jani A, Malkowicz SB, Mantz CA, Master V, Mitra AV,

- Murthy V, Porten SP, Richaud PM, Sargos P, Efsthathiou JA, Eapen LJ, Christodouleas JP. Development and Validation of Consensus Contouring Guidelines for Adjuvant Radiation Therapy for Bladder Cancer After Radical Cystectomy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2016;96(1):78–86. doi: 10.1016/j.ijrobp.2016.04.032.
16. Fujita N, Hatakeyama S, Momota M, Tobisawa Y, Yoneyama T, Yamamoto H, Imai A, Ito H, Yoneyama T, Hashimoto Y, Yoshikawa K, Ohyama C. Impact of symptomatic recurrence on oncological outcomes in patients with primary high-risk non-muscle-invasive bladder cancer. *Urol Oncol.* 2021;39(3):194.e9–194.e16. doi: 10.1016/j.urolonc.2020.08.026.
 17. Khanna A, Zganjar A, Lyon T, Shah P, Tollefson MK, Karnes RJ, Tarrell R, Thapa P, Thompson RH, Frank I, Boorjian SA. A contemporary analysis of urethral recurrence following radical cystectomy. *J Urol.* 2021;206(4):970–977. doi: 10.1097/JU.0000000000001842.

A clinical case of a big urethral recurrence after cystectomy in a patient with invasive bladder cancer

A.S. Balkanov¹ • A.V. Vinogradov¹ • V.V. Bazaev¹ • E.A. Stepanova¹ • S.V. Garmash¹

The urethral recurrence (UR) of invasive bladder cancer (IBC) after cystectomy is observed in 6% of patients at highest. In this clinical observation of a 38-year old man, a mass (103 × 38 mm) was found in the proximal urethra by magnetic resonance imaging at 15 months after radical (R0) cystectomy for IBC pT4aN0M0. The clinical picture of UR was characterized by urethrorrhagia and priapism with associated advanced pain syndrome. At 3 months after surgical resection of the UR and subsequent chemotherapy, distant lung, liver and bone metastases were found, which led to the patient's death at 5 months after penectomy. This clinical case indicates that after radical cystectomy, the

occurrence of a big-sized urethral recurrence of IBC can cause rapid development of distant metastatic disease.

Key words: invasive bladder cancer, cystectomy, urethral recurrence, distant metastasis

For citation: Balkanov AS, Vinogradov AV, Bazaev VV, Stepanova EA, Garmash SV. A clinical case of a big urethral recurrence after cystectomy in a patient with invasive bladder cancer. *Almanac of Clinical Medicine.* 2022;50(1):71–75. doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-011.

Received 20 December 2022; revised 1 April 2022; accepted 11 April 2022; published online 19 April 2022

Andrey S. Balkanov – MD, PhD, Head of Department of Radiotherapy¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1601-9780>. E-mail: andreybalkanov@yandex.ru

Alexander V. Vinogradov – Urologist, Department of Urology¹. E-mail: vinogradovdoc@mail.ru

Vladimir V. Bazaev – MD, PhD, Professor, Chair of Urology, Postgraduate Training Faculty¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5421-8900> ☒ 61/2–15 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation. Tel.: +7 (916) 346 97 89. E-mail: vvbazaev@rambler.ru

Elena A. Stepanova – MD, PhD, Head of Department of Diagnostic Radiology¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9037-0034>. E-mail: stepanovamoniki@gmail.com

Sergei V. Garmash – MD, PhD, Leading Research Fellow, Department of Urology¹. E-mail: 89262343904@mail.ru

Informed consent statement

The patient has signed his informed consent for the use of his medical data for research purposes.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Authors' contribution

A.S. Balkanov, the paper concept, text writing; A.V. Vinogradov and S.V. Garmash, in-patient case management, analysis of clinical data; V.V. Bazaev, interpretation of the clinical case, text editing, approval of the final version of the manuscript; E.A. Stepanova, interpretation of the clinical data, preparation of illustrations. All the authors have read and approved the final version of the manuscript before submission, agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

¹ Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI); 61/2 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation



Ретракция

Ретракция

doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-012

Отзывается из печати статья: Е.В. Екушева. Моторный потенциал, связанный с движением, у пациентов с поражением верхнего мотонейрона на разных уровнях двигательной системы. Альманах клинической медицины. 2001;(4):46–48. Ретракция статьи проводится по инициативе редакции после анализа базы дублирующих публикаций (Chekhovich, Yury; Khazov, Andrey (2021), “Open dataset of duplicate publications”, Mendeley Data, V2, doi: 10.17632/dy2smpf277.2). Причина ретракции – в результате технической ошибки редакции произошло дублирование статьи: Е.В. Екушева. Моторный потенциал, связанный с движением, у пациентов с поражением верхнего мотонейрона на разных уровнях двигательной системы. Альманах клинической медицины. 2001;(4):198–201. Приносим свои извинения за причиненные неудобства.

Отзывается из печати статья: Г.Е. Руденская, Н.В. Журкова. Синдром Сёгрена–Ларсона. Альманах клинической медицины. 2001;(4):82–85. Ретракция статьи проводится по инициативе редакции после анализа базы дублирующих публикаций (Chekhovich, Yury; Khazov, Andrey (2021), “Open dataset of duplicate publications”, Mendeley Data, V2, doi: 10.17632/dy2smpf277.2). Причина ретракции – в результате технической ошибки редакции произошло дублирование статьи: Г.Е. Руденская, Н.В. Журкова. Синдром Сёгрена–Ларсона: собственное наблюдение и обзор литературы. Альманах клинической медицины. 2001;(4):222–225. Приносим свои извинения за причиненные неудобства.

Retraction

doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-012

Retraction: E.V. Ekusheva. The movement-related motor potential in the patients with upper motor neuronal injury at various levels of the motor system. Almanac of Clinical Medicine. 2001;(4):46–48. The retraction of the paper has been initiated by the Publisher after the analysis of the database of duplicate publications (Chekhovich, Yury; Khazov, Andrey (2021), “Open dataset of duplicate publications”, Mendeley Data, V2, doi: 10.17632/dy2smpf277.2). The reason for retraction is as follows: due to a technical error there was a duplicate publication of the paper by E.V. Ekusheva “The movement-related motor potential in the patients with upper motor neuronal injury at various levels of the motor system”. Almanac of Clinical Medicine. 2001;(4):198–201. The Publisher apologizes for any inconvenience this may cause.

Retraction: G.E. Rudenskaya, N.V. Zhurkova. Sjogren–Larsson syndrome. Almanac of Clinical Medicine. 2001;(4):82–85. The retraction of the paper has been initiated by the Publisher after the analysis of the database of duplicate publications (Chekhovich, Yury; Khazov, Andrey (2021), “Open dataset of duplicate publications”, Mendeley Data, V2, doi: 10.17632/dy2smpf277.2). The reason for retraction is as follows: due to a technical error there was a duplicate publication of the paper by G.E. Rudenskaya, N.V. Zhurkova “Sjogren–Larsson syndrome: a case report and literature review”. Almanac of Clinical Medicine. 2001;(4):222–225. The Publisher apologizes for any inconvenience this may cause.

