

DOI: 10.21294/1814-4861-2017-16-6-86-92

УДК: 616.341+616.343+616.345+616.351] – 092-056.57-036.17-037

Для цитирования: Рачковский К.В., Вторушин С.В., Степанов И.В., Наумов С.С., Завьялова М.В., Афанасьев С.Г. Роль процессов аутофагии и ангиогенеза при колоректальном раке. Сибирский онкологический журнал. 2017; 16 (6): 86–92. – DOI: 10.21294/1814-4861-2017-16-6-86-92.

For citation: Rachkovsky K.V., Vtorushin S.V., Stepanov I.V., Naumov S.S., Zavyalova M.V., Afanasyev S.G. The role of autophagy and angiogenesis in colorectal cancer. Siberian Journal of Oncology. 2017; 16 (6): 86–92. – DOI: 10.21294/1814-4861-2017-16-6-86-92.

РОЛЬ ПРОЦЕССОВ АУТОФАГИИ И АНГИОГЕНЕЗА ПРИ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ

К.В. Рачковский¹, С.В. Вторушин^{1,2}, И.В. Степанов^{1,2}, С.С. Наумов¹,
М.В. Завьялова^{1,2}, С.Г. Афанасьев²

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет», г. Томск, Россия¹

634050, г. Томск, Московский тракт, 2. E-mail: kirillvr@yandex.ru¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия²

634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5. E-mail: wtorushin@rambler.ru²

Аннотация

Цель исследования – обобщение имеющихся данных о роли аутофагии и ангиогенеза в развитии, прогрессировании и оценке прогноза колоректального рака. **Материал и методы.** Поиск соответствующих источников производился в системах Medline, Cochrane Library, Elibrary. Из 340 найденных исследований 48 были использованы для написания систематического обзора. **Результаты.** На данный момент существует многообразие прогностических маркеров, используемых при изучении патогенеза, диагностике и лечении колоректального рака. В обзоре рассмотрены молекулярные механизмы участия различных белков аутофагии и ангиогенеза в патогенезе и прогрессировании колоректального рака, представлено потенциальное значение использования их в клинической практике. **Заключение.** Многие из существующих маркеров могут быть использованы при оценке не только прогноза, но и чувствительности к химиотерапии. Однако противоречивые результаты исследований в отношении некоторых белков требуют дальнейшего изучения, их валидации с последующим внедрением в практику.

Ключевые слова: колоректальный рак, аутофагия, ангиогенез, факторы прогноза.

Колоректальный рак (КРР) является одной из самых распространенных злокачественных опухолей, занимая в Российской Федерации 3-е место в структуре онкологической заболеваемости, что составляет 10 % от всех случаев злокачественных новообразований. Самая высокая заболеваемость колоректальным раком отмечается в США, Канаде, странах Западной Европы и России. Менее выражен рост темпов заболеваемости в странах Азии и Африки. По данным литературы, ежегодно диагностируется более 800 тысяч первичных случаев колоректального рака и более 440 тысяч летальных исходов по всему миру [1–3].

Прогноз и тактика лечения при колоректальном раке во многом зависят от стадии заболевания и степени дифференцировки опухоли. Однако даже в пределах клинически однородных групп пациентов КРР характеризуется гетерогенным течением и неодинаковым ответом на терапию. Подобное явление связывают с тем, что среди схожих морфологических вариантов опухолей можно выделить несколько молекулярно-биологических субтипов,

значительно различающихся по своему молекулярному патогенезу [4].

На основании анализа литературы, опубликованной за последние годы, можно сделать вывод, что молекулярно-биологические свойства опухоли при КРР являются основой лечения этой патологии. Крайне актуальным является изучение процессов аутофагии и ангиогенеза в опухоли, а также молекулярно-биологических маркеров, взаимосвязанных с ними. Аутофагия представляет собой катаболический процесс, который характеризуется клеточным самоперевариванием и удалением избыточных, долгоживущих или дисфункциональных органелл и белков. Выделяют три морфологические формы аутофагии: макроаутофагия, микроаутофагия и шаперон-опосредованная аутофагия. Макроаутофагия характеризуется наличием двойных мембранных везикул, известных как аутофагосомы, которые захватывают компоненты цитоплазмы и доставляют их в лизосомы для дальнейшего переваривания. При микроаутофагии макромолекулы захватываются самой лизосомой.

Третий тип, шаперон-опосредованная аутофагия, подразумевает направленный транспорт белков и других макромолекул из цитоплазмы в полость лизосомы для дальнейшего их переваривания с помощью лизосомальных гидролаз [5].

После аутофагической деструкции внутриклеточный материал удаляется из лизосомального комплекса, и происходит его рециркуляция в цитоплазме [6]. Ряд исследований убедительно показали, что процессы аутофагии наиболее выражены в злокачественных опухолях, вызванных мутациями генов семейства RAS. Особенно активная аутофагия наблюдается в зонах опухоли, где трансформированные клетки испытывают состояние гипоксии, что может рассматриваться как защитный процесс, позволяющий поддерживать жизнедеятельность опухолевых клеток [7].

Аутофагия является важным этапом на пути трансформации здоровых клеток в злокачественные. Точные механизмы, приводящие к запуску процессов аутофагии в раковых клетках, еще не полностью изучены. С одной стороны, аутофагия – это способ контроля, используемый нормальными клетками, защищающий их от превращения в злокачественные. Данный механизм осуществляется путем удаления поврежденных органелл и продуктов обмена, а также уменьшения количества активных форм кислорода. С другой стороны, аутофагия может способствовать формированию и росту опухоли, помогая обеспечивать клетку питательными веществами, что имеет решающее значение для метаболизма и роста трансформированных клеток [8]. Так, в условиях дефицита питательных веществ или при других стрессовых состояниях аутофагия обеспечивает клетку незаменимыми аминокислотами и энергией для синтеза белка [9]. Кроме того, аутофагия позволяет клеткам выжить путем ингибирования апоптоза и повышения резистентности к лекарственным средствам. F. Burada et al. показали, что раковые клетки, выделенные из опухолей с подавленными процессами аутофагии, были менее резистентны к экзогенным факторам, чем их аналоги с нормально протекающими процессами аутофагии. Таким образом, опухоли с дефицитом аутофагии становятся более чувствительными к химиотерапевтическим агентам и лучевой терапии [10].

Процессы аутофагии регулируются множеством генов, такими как LC3, Beclin-1, p62 и 51-подобная киназа 1 (ULK1), которые являются основными маркерами, связанными с аутофагией. Наиболее изученными белками являются LC3 и Beclin-1 [11]. LC3 является точно установленным маркером аутофагии в раковых клетках и белком, предположительно вовлеченным в процессы развития колоректального рака человека [12]. Гиперэкспрессия LC3-II наблюдается в клетках опухолей, особенно на поздних стадиях [13]. Отличительной чертой формирования аутофагосомы с участием LC3

является введение данного белка в пространство между внутренним и наружным слоями формируемой везикулы.

Beclin-1 – это белок, также специфичный для процесса аутофагии, который регулирует образование аутофагосом [12]. Среди всех связанных с аутофагией белков Beclin-1 является ключевым регулятором этого процесса [14]. Beclin-1 взаимодействует с несколькими связывающими белками и может как индуцировать, так и подавлять аутофагический путь. До недавнего времени ген BECN1, кодирующий белок Beclin-1, был известен в качестве гена-супрессора опухоли. Тем не менее текущие исследования не выявили доказательств мутации BECN1 или потери данного гена при злокачественных новообразованиях, за исключением рака молочной железы и яичников [15]. Доказано, что дисфункция Beclin-1 связана с рядом иммунных расстройств, нейродегенеративными заболеваниями и раком [16]. Данные Cancer Genome Atlas Research Network показывают, что только 2,5 % колоректального рака сопровождаются генетическими изменениями гена BECN1. Не до конца изученным остается вопрос о локализации Beclin-1 в клетке. Полагают, что данный белок находится главным образом в цитозоле, однако в некоторых исследованиях была продемонстрирована как ядерная, так и цитоплазматическая локализация Beclin-1 [17].

S. Wu et al. исследовали экспрессию трех белков, связанных с аутофагией (Beclin1, LC3 и mTOR), у пациентов с колоректальным раком. Было показано, что экспрессионные показатели LC3 и mTOR могут быть использованы как прогностические маркеры для оценки выживаемости при КРР [18]. Установлено, что эти белки расположены главным образом в цитоплазме клеток, и их экспрессия значимо выше в опухолевых клетках, чем в здоровых. Показатели экспрессии LC3 оказались связаны с дифференцировкой клеток, а mTOR – также с параметрами лимфогенного метастазирования. Кроме того, повышенная экспрессия LC3 и сниженная экспрессия mTOR были связаны с выживаемостью пациентов с КРР [16].

ULK1/Atg 1 представляет собой серин/треонинкиназу, которая необходима для процесса аутофагии и раннего образования аутофагосом у млекопитающих [19, 20]. Данные о роли этих белковых молекул в патогенезе онкологических заболеваний крайне ограничены. Тем не менее считается, что изменение экспрессии ULK1/Atg 1 носит прогностический характер при некоторых злокачественных новообразованиях, но для большинства опухолей связь прогноза и выраженности экспрессии данного маркера не установлена [21]. Так, известно, что высокая экспрессия ULK 1 при плоскоклеточном раке пищевода связана с неблагоприятным прогнозом заболевания [21]. В то же время для рака молочной железы связь экспрессии

данного маркера с прогнозом, по данным разных авторов, противоречива. Ряд источников связывают гиперэкспрессию ULK 1 с неблагоприятным прогнозом, другие авторы, наоборот, отождествляют низкую экспрессию ULK1 с опухолевым ростом [22, 23]. Несмотря на то, что роль ULK1/Atg1 в процессах опухолевой прогрессии остается не до конца изученной, тем не менее принято считать, что гиперэкспрессия данного опухолевого маркера может играть значимую роль в онкогенезе [19].

P62 – адаптерный белок, основной функцией которого является сборка белковых комплексов. P62 участвует в нескольких важных сигнальных путях в клетке. Кроме того, p62 играет существенную роль в регуляции апоптоза, путем активации полиубиквитинированной каспазы 8, и влияет на окислительные стрессы.

Недостаточно изучено влияние ключевых белков аутофагии на химиорезистентность клеток колоректального рака. K.J. Schmitz et al. [12], исследуя потенциальную прогностическую ценность белков Beclin-1, p62, LC3 и ULK1 в образцах КРР, установили, что снижение экспрессии p62 в цитоплазме опухолевых клеток прямо коррелирует с неблагоприятным течением заболевания и повышением химиорезистентности клеток КРР. Был проведен иммуногистохимический анализ экспрессии белков LC3, p62, Beclin-1 и ULK1, который выявил, что в клетках опухолевой ткани белки P62 и Beclin-1, содержащиеся в цитоплазме и в ядре, окрашиваются с различной частотой, в зависимости от своей локализации в клетке. При этом важно отметить, что в нормальной ткани слизистой оболочки кишечника из образца дивертикулеза иммуногистохимическое окрашивание с антителами к p62 и LC3 отсутствовало. Согласно результатам исследования, из 126 изученных опухолей КРР 15 (11,9 %) классифицированы как цитоплазматические p62-отрицательные, остальные 111 (88,1 %) обозначены как цитоплазматические p62-положительные [12]. Установлены, по крайней мере, два механизма работы белка p62, которые могут объяснить агрессивное течение p62-отрицательного колоректального рака:

1) p62 может действовать как супрессор опухолей, поскольку он способен индуцировать аутофагическую деградацию регуляторов сигнального пути Wnt [24];

2) отсутствие cdk1-опосредованного фосфорилирования p62 приводит к усиленной клеточной пролиферации. Таким образом, снижение экспрессии белка p62 может привести к более быстрому выходу клетки из процесса митоза, что приводит к ускоренному клеточному делению [25].

По данным K.J. Schmitz et al., наличие белков Beclin-1 и LC3 в ядре также было связано с уменьшением чувствительности опухолевых клеток КРР к химиотерапии, но исключительно в подгруппе клеток с мутациями генов KRAS. Было также вы-

явлено, что экспрессия ULK-1 не была связана с прогнозом при колоректальном раке [12].

В последнее время все больший интерес вызывает возможность использовать моноклональные антитела против рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) в терапии колоректального рака. Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) признан важным посредником в возникновении и прогрессировании КРР. Однако довольно быстро было установлено, что некоторые КРР (по неопределенным причинам) оказались резистентными к терапии anti-EGFR [26].

Z. Chen et al. при изучении влияния aEGFR на клетки колоректального рака *in vitro* установили, что рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) играет ключевую роль в иницировании, прогрессировании, росте и развитии метастазов колоректального рака. aEGFR дозозависимо активирует Beclin-1 в двух клеточных линиях КРР – HT29 и SW480. Авторы делают вывод о том, что aEGFR может снижать уровень микро-РНК в клетках колоректального рака, что впоследствии активирует Beclin-1 и увеличивает аутофагию опухолевых клеток, чтобы предотвратить их aEGFR-опосредованную гибель [27]. Таким образом, активация процессов, которые позволяют повысить уровни микро-РНК и ингибировать клеточную аутофагию, может потенциально улучшить результаты лечения КРР с помощью aEGFR.

Роль микро-РНК (miRNA) в жизнедеятельности клеток опухолевой ткани рассматривается и в других исследованиях. Микро-РНК представляют собой класс некодирующих небольших РНК, которые регулируют перенос белка мРНК. Имеются данные, свидетельствующие о том, что miRNA играют важную роль в росте опухолевых клеток [28, 29]. В частности, ингибитор Beclin-1, MicroRNA-30a (miR-30a), участвует в большинстве клеточных процессов, включая транскрипцию мРНК и трансляцию белка. Известно, что связывание miR-30a с Beclin-1 ингибирует экспрессию Beclin-1 в раковых клетках [30]. L. Liu et al. при исследовании экспрессии miR-30a в ткани колоректального рака показали, что уровень этого маркера в опухоли был значительно ниже, чем в здоровых тканях, и обратно коррелировал с уровнем белка Beclin-1. Это явление указывает на то, что аутофагия активируется в тканях КРР, что может быть вызвано уменьшением miR-30a [10].

Ангиогенез представляет собой сложный процесс, в ходе которого образуются новые кровеносные сосуды из эндотелиального предшественника, что является ключевым фактором в развитии опухолевой ткани. Установлено, что рост опухоли и распространение метастазов главным образом зависят от двух сигнальных молекул: сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) и рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) [31, 32]. Открытие этих молекулярных маркеров

стало основой для разработки лекарственных препаратов, ингибирующих опухолевый ангиогенез. Наиболее эффективными оказались анти-VEGF-агенты, которые являются препаратами выбора для лечения метастазов колоректального рака. У больных КРР с низким уровнем экспрессии генов VEGFA, VEGFR1 и VEGFR-2 (изоформы VEGF) выше средняя безрецидивная выживаемость, и они значительно лучше поддаются лечению ингибиторами ангиогенеза, чем пациенты с высокой экспрессией этих генов [33–36].

Особого внимания в качестве маркера ангиогенеза заслуживает микроРНК. Недавние исследования показали, что miRNA могут модулировать ангиогенез опухоли посредством воздействия на проангиогенные факторы, включая RTK-сигнальный белок, HIF, VEGF и EGF [37]. Наибольший интерес представляет изоформа miRNA-126, высокая экспрессия которой связана с усилением передачи сигналов VEGF-A в эндотелиальных клетках [38]. Наличие miRNA-126 является благоприятным прогностическим признаком. При КРР с выраженной экспрессией данного маркера выше показатели 5-летней выживаемости [37].

Известен еще один маркер ангиогенеза – TEM, который продуцируется злокачественными клетками и является маркером эндотелия опухоли [39]. В. St Croix et al. впервые сравнили экспрессию

TEM в здоровых эндотелиоцитах и эндотелиальных клетках колоректального рака [40]. Существуют различные изоформы TEM, но прогностическую значимость имеют TEM1, TEM5, TEM7, TEM7R и TEM8, их экспрессия значительно увеличивается у пациентов с КРР, остальные изоформы могут встречаться и в условиях физиологического ангиогенеза [41–43]. Экспрессия TEM1 значительно ниже в тканях колоректального рака I стадии по сравнению с более поздними стадиями. Соответственно, было высказано предположение, что у пациентов с КРР экспрессия TEM1 коррелирует с распространенностью процесса [44]. Следует отметить, что повышение уровня TEM1 может быть связано не только с прогрессированием и метастазированием КРР. Уровень экспрессии TEM1 также повышен при карциномах молочной железы, легких, поджелудочной железы, мочевого пузыря, глиоме мозга и меланоме [44–48].

Таким образом, данные литературы свидетельствуют о том, что изучение маркеров аутофагии и ангиогенеза является перспективным направлением для оценки прогноза и лечения колоректального рака, но, учитывая сложность и многоступенчатость указанных процессов, а также существование большого количества изоформ маркеров, необходимо проведение более подробных и целенаправленных исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Циммерман Я.С. Колоректальный рак: современное состояние проблемы. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2012; 4: 5–16.
2. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований 2014 г. Евразийский онкологический журнал. 2016; 4 (4): 692–879.
3. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность). М., 2017. 250 с.
4. Имянитов Е.Н. Клинико-молекулярные аспекты колоректального рака: этиопатогенез, профилактика, индивидуализация лечения. Практическая онкология. 2005; 6 (2): 65–70.
5. Gil J., Pesz K.A., Sasiadek M.M. May autophagy be a novel biomarker and antitumor target in colorectal cancer? Biomarkers in Medicine. 2016; 10 (10): 1081–1094. doi: 10.2217/bmm-2016-0083.
6. Rabinowitz J.D., White E. Autophagy and metabolism. Science. 2010; 330: 13441348. doi: 10.1126/science.1193497.
7. Degenhardt K., Mathew R., Beaudoin B., Bray K., Anderson D., Chen G., Mukherjee C., Shi Y., Gélinas C., Fan Y., Nelson D.A., Jin S., White E. Autophagy promotes tumor cell survival and restricts necrosis, inflammation, and tumorigenesis. Cancer Cell. 2006 Jul; 10 (1): 51–64.
8. Burada F., Nicoli E.R., Ciurea M.E., Uscatu D.C., Ioana M., Gheonea D.I. Autophagy in colorectal cancer: An important switch from physiology to pathology. World J Gastrointest Oncol. 2015 Nov 15; 7 (11): 271–84. doi: 10.4251/wjgo.v7.i11.271.
9. Dunn W.A. Jr. Autophagy and related mechanisms of lysosome-mediated protein degradation. Trends Cell Biol. 1994 Apr; 4 (4): 139–43.
10. Liu L., Meng T., Wang Q.S., Jin H.Z., Sun Z.Q., Jin B., Fang F., Wang H.J. Association of Beclin-1 and microRNA-30a expression with the severity and treatment response of colorectal cancer. Genet Mol Res. 2016 Apr 7; 15 (2). doi: 10.4238/gmr.15027704.
11. Jiang Z.F., Shao L.J., Wang W.M., Yan X.B., Liu R.Y. Decreased expression of Beclin-1 and LC3 in human lung cancer. Mol Biol Rep. 2012 Jan; 39 (1): 259–67. doi: 10.1007/s11033-011-0734-1.
12. Schmitz K.J., Ademi C., Bertram S., Schmid K.W., Baba H.A. Prognostic relevance of autophagy-related markers LC3, p62/sequestosome 1, Beclin-1 and ULK1 in colorectal cancer patients with respect to KRAS mutational status. World J Surg Oncol. 2016 Jul 22; 14 (1): 189. doi: 10.1186/s12957-016-0946-x.
13. Chen Z., Li Y., Zhang C., Yi H., Wu C., Wang J., Liu Y., Tan J., Wen J. Downregulation of Beclin 1 and impairment of autophagy in a small population of colorectal cancer. Dig Dis Sci. 2013; 58: 2887–2894. doi: 10.1007/s10620-013-2732-8.
14. Levine B., Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease. Cell. 2008 Jan 11; 132 (1): 27–42. doi: 10.1016/j.cell.2007.12.018.
15. Laddha S.V., Ganesan S., Chan C.S., White E. Mutational landscape of the essential autophagy gene BECN1 in human cancers. Mol Cancer Res. 2014; 12: 485–490. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-13-0614.
16. Sahni S., Merlot A.M., Krishan S., Jansson P.J., Richardson D.R. Gene of the month: BECN1. J Clin Pathol. 2014 Aug; 67 (8): 656–60. doi: 10.1136/jclinpath-2014-202356.
17. Koukourakis M.I., Giatromanolaki A., Sivridis E., Pitiakoudis M., Gatter K.C., Harris A.L. Beclin 1 over- and underexpression in colorectal cancer: distinct patterns relate to prognosis and tumour hypoxia. Br J Cancer. 2010; 103: 1209–1214. doi: 10.1038/sj.bjc.6605904.
18. Wu S., Sun C., Tian D., Li Y., Gao X., He S., Li T. Expression and clinical significances of Beclin1, LC3 and mTOR in colorectal cancer. Int J Clin Exp Pathol. 2015; 8 (4): 3882–91. eCollection 2015.
19. Kundu M., Wang B. Canonical and noncanonical functions of ULK/Atg1. Curr Opin Cell Biol. 2017 Apr; 45: 47–54. doi: 10.1016/j.ceb.2017.02.011.
20. Amaravadi R., Kimmelman A.C., White E. Recent insights into the function of autophagy in cancer. Genes Dev. 2016 Sep 1; 30 (17): 1913–30. doi: 10.1101/gad.287524.116.
21. Jiang S., Li Y., Zhu Y.H., Wu X.Q., Tang J., Li Z., Feng G.K., Deng R., Li D.D., Luo R.Z., Zhang M.F., Qin W., Wang X., Jia W.H., Zhu X.F. Intensive expression of UNC-51-like kinase 1 is a novel biomarker of poor prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma. Cancer Sci. 2011 Aug; 102 (8): 1568–75. doi: 10.1111/j.1349-7006.2011.01964.x.
22. Pike L.R., Singleton D.C., Buffa F., Abramczyk O., Phadwal K., Li J.L., Simon A.K., Murray J.T., Harris A.L. Transcriptional up-regulation of ULK1 by ATF4 contributes to cancer cell survival. Biochem J. 2013; 449: 389–400. doi: 10.1042/BJ20120972.
23. Tang J., Deng R., Luo R.Z., Shen G.P., Cai M.Y., Du Z.M., Jiang S., Yang M.T., Fu J.H., Zhu X.F. Low expression of ULK1 is associated with operable breast cancer progression and is an adverse prognostic marker of survival for patients. Breast Cancer Res Treat. 2012; 134: 549–60. doi: 10.1007/s10549-012-2080-y.
24. Gao C., Cao W., Bao L., Zuo W., Xie G., Cai T., Fu W., Zhang J., Wu W., Zhang X., Chen Y.G. Autophagy negatively regulates Wnt signaling by promoting Dishevelled degradation. Nature Cell Biology. 2010; 12 (8): 781–90. doi: 10.1038/ncb2082.

25. Linares J.F., Amanchy R., Greis K., Diaz-Meco M.T., Moscat J. Phosphorylation of p62 by cdk1 controls the timely transit of cells through mitosis and tumor cell proliferation. *Mol Cell Biol.* 2011; 31 (1): 105–117. doi: 10.1128/mcb.00620-10.
26. Jeong W.J., Cha P.H., Choi K.Y. Strategies to overcome resistance to epidermal growth factor receptor monoclonal antibody therapy in metastatic colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 2014 Aug 7; 20 (29): 9862–71. doi: 10.3748/wjg.v20.i29.9862.
27. Chen Z., Gao S., Wang D., Song D., Feng Y. Colorectal cancer cells are resistant to anti-EGFR monoclonal antibody through adapted autophagy. *Am J Transpl Res.* 2016; 8 (2): 1190–6. eCollection 2016.
28. Mei Q., Li F., Quan H., Liu Y., Xu H. Busulfan inhibits growth of human osteosarcoma through miR-200 family microRNAs in vitro and in vivo. *Cancer Sci.* 2014; 105: 755–762. doi: 10.1111/cas.12436.
29. Liu G., Jiang C., Li D., Wang R., Wang W. MiRNA-34a inhibits EGFR-signaling-dependent MMP7 activation in gastric cancer. *Tumour Biol.* 2014 Oct; 35 (10): 9801–6. doi: 10.1007/s13277-014-2273-6.
30. Zhu H., Wu H., Liu X., Li B., Chen Y., Ren X., Liu C.G., Yang J.M. Regulation of autophagy by a beclin 1-targeted microRNA, miR-30a, in cancer cells. *Autophagy.* 2009; 5 (6): 816–823.
31. Minder P., Zajac E., Quigley J.P., Deryugina E.I. EGFR Regulates the Development and Microarchitecture of Intratumoral Angiogenic Vasculature Capable of Sustaining Cancer Cell Intravasation. *Neoplasia.* 2015; 17 (8): 634–49 doi: 10.1016/j.neo.2015.08.002.
32. Mousa L., Salem M.E., Mikhail S. Biomarkers of Angiogenesis in Colorectal Cancer. *Biomarkers in cancer.* 2015; 7 (suppl 1): 13–19. doi:10.4137/BIC.S25250.
33. Jain R.K. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy. *Science.* 2005; 307 (5706): 58–62. doi: 10.1126/science.1104819.
34. Brown L.F., Berse B., Jackman R.W., Tognazzi K., Manseau E.J., Senger D.R., Dvorak H.F. Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in adenocarcinomas of the gastrointestinal tract. *Cancer Res.* 1993; 53(19): 4727–4735.
35. Jantus-Lewintre E., Sanmartin E., Sirera R., Blasco A., Sanchez J.J., Taron M., Rosell R., Camps C. Combined VEGF-A and VEGFR-2 concentrations in plasma: diagnostic and prognostic implications in patients with advanced NSCLC. *Lung Cancer.* 2011 Nov; 74 (2): 326–31. doi: 10.1016/j.lungcan.2011.02.016.
36. Zhang S.D., McCrudden C.M., Meng C., Lin Y., Kwok H.F. The significance of combining VEGFA, FLT1, and KDR expressions in colon cancer patient prognosis and predicting response to bevacizumab. *Oncotargets Ther.* 2015; 8: 835–843. doi: 10.2147/OTT.S80518.
37. Stiegelbauer V., Perakis S., Deutsch A., Ling H., Gerger A., Pichler M. MicroRNAs as novel predictive biomarkers and therapeutic targets in colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 2014; 20 (33): 11727–11735. doi: 10.3748/wjg.v20.i33.11727.
38. Hansen T.F., Christensen R.D., Andersen R.F., Sorensen F.B., Johnsson A., Jakobsen A. MicroRNA-126 and epidermal growth factor-like domain 7-an angiogenic couple of importance in metastatic colorectal cancer. Results from the Nordic ACT trial. *Br J Cancer.* 2013; 109 (5): 1243–51. doi: 10.1038/bjc.2013.448.
39. Pietrzyk L. Biomarkers Discovery for Colorectal Cancer: A Review on Tumor Endothelial Markers as Perspective Candidates. *Disease Markers.* 2016; 2016: 1–11. doi: 10.1155/2016/4912405.
40. St Croix B., Rago C., Velculescu V., Traverso G., Romans K.E., Montgomery E., Lal A., Riggins G.J., Lengauer C., Vogelstein B., Kinzler K.W. Genes expressed in human tumor endothelium. *Science.* 2000; 289: 1197–1202. doi: 10.1126/science.289.5482.1197.
41. Mehran R., Nilsson M., Khajavi M., Du Z., Cascone T., Wu H.K., Cortes A., Xu L., Zurita A., Schier R., Riedel B., El-Zein R., Heymach J.V. Tumor endothelial markers define novel subsets of cancer-specific circulating endothelial cells associated with antitumor efficacy. *Cancer Res.* 2014; 74 (10): 2731–41. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-2044.
42. Carson-Walter E.B., Watkins D.N., Nanda A., Vogelstein B., Kinzler K.W., St Croix B. Cell surface tumor endothelial markers are conserved in mice and humans. *Cancer Res.* 2001; 61 (18): 6649–55.
43. Rmali K.A., Puntis M.C.A., Jiang W.G. Prognostic values of tumor endothelial markers in patients with colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 2005 Mar 7; 11(9): 1283–6.
44. Tomkowicz B., Rybinski K., Foley B., Ebel W., Kline B., Routhier E., Sass P., Nicolaides N.C., Grasso L., Zhou Y. Interaction of endosialin/TEM1 with extracellular matrix proteins mediates cell adhesion and migration. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007; 104 (46): 17965–70. doi: 10.1073/pnas.0705647104.
45. Davies G., Cunnick G.H., Mansel R.E., Mason M.D., Jiang W.G. Levels of expression of endothelial markers specific to tumour-associated endothelial cells and their correlation with prognosis in patients with breast cancer. *Clin Exp Metastasis.* 2004; 21 (1): 31–37. doi: 10.1023/B:CLIN.0000017168.83616.d.
46. Dolznig H., Schweifer N., Puri C., Kraut N., Retting W.J., Kerjaschki D., Garin-Chesa P. Characterization of cancer stroma markers: In silico analysis of an mRNA expression database for fibroblast activation protein and endosialin. *Cancer Imm.* 2005; 5: 10.
47. Brady J., Neal J., Sadakar N., Gasque P. Human endosialin (tumor endothelial marker 1) is abundantly expressed in highly malignant and invasive brain tumors. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2004; 63 (12): 1274–1283. doi: 10.1093/jnen/63.12.1274.
48. Huber M.A., Kraut N., Schweifer N., Dolznig H., Peter R.U., Schubert R.D., Scharfetter-Kochanek K., Pehamberger H., Garin-Chesa P. Expression of stromal cell markers in distinct compartments of human skin cancers. *J Cutan Pathol.* 2006; 33 (2): 145–155. doi:10.1111/j.0303-6987.2006.00446.x.

Поступила 24.09.17
Принята в печать 16.10.17

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Рачковский Кирилл Владимирович, аспирант кафедры патологической анатомии, Сибирский государственный медицинский университет (г. Томск, Россия). E-mail: kirillvr@yandex.ru. SPIN-код: 6814-7094.

Вторушин Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры патологической анатомии, Сибирский государственный медицинский университет; старший научный сотрудник отделения патологической анатомии и цитологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: wtorushin@rambler.ru. SPIN-код: 2442-4720.

Степанов Иван Вадимович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии, Сибирский государственный медицинский университет (г. Томск, Россия). E-mail: ivanstepanov@sibmail.com. SPIN-код: 5930-3160.

Наумов Сергей Сергеевич, студент лечебного факультета, Сибирский государственный медицинский университет (г. Томск, Россия). E-mail: serg.nau2011@gmail.com.

Завьялова Марина Викторовна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой патологической анатомии, Сибирский государственный медицинский университет; ведущий научный сотрудник отделения патологической анатомии и цитологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: zavyalovamv@mail.ru. SPIN-код: 1229-0323.

Афанасьев Сергей Геннадьевич, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник торако-абдоминального отделения, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: Afanasievsg@oncology.tomsk.ru. SPIN-код: 9206-3037.

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о котором необходимо сообщить

THE ROLE OF AUTOPHAGY AND ANGIOGENESIS IN COLORECTAL CANCER

K.V. Rachkovsky¹, S.V. Vtorushin^{1,2}, I.V. Stepanov^{1,2}, S.S. Naumov¹,
M.V. Zavyalova^{1,2}, S.G. Afanasyev²

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia¹

2, Moskovskiy Tract, 634050-Tomsk, Russia. E-mail: kirillvr@yandex.ru¹

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences,
Tomsk, Russia²

5, Kooperativny Street, 634009-Tomsk, Russia. E-mail: wtorushin@rambler.ru²

Abstract

The purpose of the study was a review of available data on the role of autophagy and angiogenesis in the development, progression and prognosis of colorectal cancer. **Material and methods.** Databases searched were Medline, Cochrane Library and Elibrary. Of 340 studies, 48 were used to write a systematic review. **Results.** To date, there is a variety of prognostic markers used in the study of pathogenesis, diagnosis and treatment of colorectal cancer. The review describes the molecular mechanisms of the participation of various proteins of autophagy and angiogenesis in the pathogenesis and progression of colorectal cancer, and the potential importance of their use in clinical practice is presented. **Conclusion.** Many of the existing markers can be used not only in assessing the prognosis, but also sensitivity to chemotherapy. However, the contradictory results of studies with respect to certain proteins require further study, validation, and subsequent introduction into practice.

Key words: colorectal cancer, autophagy, angiogenesis, prognostic factors.

REFERENCES

1. *Tsimmerman Ya.S.* Colorectal cancer. Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology and Coloproctology. 2012; 4: 5–16. [in Russian]
2. *Davydov M.I., Aksel E.M.* Statistics of malignant tumors in 2014. Eurasian Journal of Oncology. 2016; 4 (4): 692–879. [in Russian]
3. *Kaprin A.D., Starinsky V.V., Petrova G.V.* Cancer incidence and mortality in Russia in 2015. Moscow: 2017, 250 p. [in Russian]
4. *Imyanitov E.N.* Clonal and molecular aspects of colorectal cancer: pathogenesis, prevention and personalized treatment. Practical Oncology. 2005; 6 (2): 65–70. [in Russian]
5. *Gil J., Pesz K.A., Sasiadek M.M.* May autophagy be a novel biomarker and antitumor target in colorectal cancer? Biomarkers in Medicine. 2016; 10 (10): 1081–1094. doi: 10.2217/bmm-2016-0083.
6. *Rabinowitz J.D., White E.* Autophagy and metabolism. Science. 2010; 330: 13441348. doi: 10.1126/science.1193497.
7. *Degenhardt K., Mathew R., Beaudoin B., Bray K., Anderson D., Chen G., Mukherjee C., Shi Y., Gélinas C., Fan Y., Nelson D.A., Jin S., White E.* Autophagy promotes tumor cell survival and restricts necrosis, inflammation, and tumorigenesis. Cancer Cell. 2006 Jul; 10 (1): 51–64.
8. *Burada F., Nicolli E.R., Ciurea M.E., Uscatu D.C., Ioana M., Gheonea D.I.* Autophagy in colorectal cancer: An important switch from physiology to pathology. World J Gastrointest Oncol. 2015 Nov 15; 7 (11): 271–84. doi: 10.4251/wjgo.v7.i11.271.
9. *Dunn W.A.Jr.* Autophagy and related mechanisms of lysosome-mediated protein degradation. Trends Cell Biol. 1994 Apr; 4 (4): 139–43.
10. *Liu L., Meng T., Wang Q.S., Jin H.Z., Sun Z.Q., Jin B., Fang F., Wang H.J.* Association of Beclin-1 and microRNA-30a expression with the severity and treatment response of colorectal cancer. Genet Mol Res. 2016 Apr 7; 15 (2): doi: 10.4238/gmr.15027704.
11. *Jiang Z.F., Shao L.J., Wang W.M., Yan X.B., Liu R.Y.* Decreased expression of Beclin-1 and LC3 in human lung cancer. Mol Biol Rep. 2012 Jan; 39 (1): 259–67. doi: 10.1007/s11033-011-0734-1.
12. *Schmitz K.J., Ademi C., Bertram S., Schmid K.W., Baba H.A.* Prognostic relevance of autophagy-related markers LC3, p62/sequestosome 1, Beclin-1 and ULK1 in colorectal cancer patients with respect to KRAS mutational status. World J Surg Oncol. 2016 Jul 22; 14 (1): 189. doi: 10.1186/s12957-016-0946-x.
13. *Chen Z., Li Y., Zhang C., Yi H., Wu C., Wang J., Liu Y., Tan J., Wen J.* Downregulation of Beclin 1 and impairment of autophagy in a small population of colorectal cancer. Dig Dis Sci. 2013; 58: 2887–2894. doi: 10.1007/s10620-013-2732-8.
14. *Levine B., Kroemer G.* Autophagy in the pathogenesis of disease. Cell. 2008 Jan 11; 132 (1): 27–42. doi: 10.1016/j.cell.2007.12.018.
15. *Laddha S.V., Ganesan S., Chan C.S., White E.* Mutational landscape of the essential autophagy gene BECN1 in human cancers. Mol Cancer Res. 2014; 12: 485–490. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-13-0614.
16. *Sahni S., Merlot A.M., Krishan S., Jansson P.J., Richardson D.R.* Gene of the month: BECN1. J Clin Pathol. 2014 Aug; 67 (8): 656–60. doi: 10.1136/jclinpath-2014-202356.
17. *Koukourakis M.I., Giatromanolaki A., Sivridis E., Pitiakoudis M., Gatter K.C., Harris A.L.* Beclin 1 over- and underexpression in colorectal cancer: distinct patterns relate to prognosis and tumour hypoxia. Br J Cancer. 2010; 103: 1209–1214. doi: 10.1038/sj.bjc.6605904.
18. *Wu S., Sun C., Tian D., Li Y., Gao X., He S., Li T.* Expression and clinical significances of Beclin1, LC3 and mTOR in colorectal cancer. Int J Clin Exp Pathol. 2015; 8 (4): 3882–91. eCollection 2015.
19. *Kundu M., Wang B.* Canonical and noncanonical functions of ULK/Atg1. Curr Opin Cell Biol. 2017 Apr; 45: 47–54. doi: 10.1016/j.ccb.2017.02.011.
20. *Amaravadi R., Kimmelman A.C., White E.* Recent insights into the function of autophagy in cancer. Genes Dev. 2016 Sep 1; 30 (17): 1913–30. doi: 10.1101/gad.287524.116.
21. *Jiang S., Li Y., Zhu Y.H., Wu X.Q., Tang J., Li Z., Feng G.K., Deng R., Li D.D., Luo R.Z., Zhang M.F., Qin W., Wang X., Jia W.H., Zhu X.F.* Intensive expression of UNC-51-like kinase 1 is a novel biomarker of poor prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma. Cancer Sci. 2011 Aug; 102 (8): 1568–75. doi: 10.1111/j.1349-7006.2011.01964.x.
22. *Pike L.R., Singleton D.C., Buffa F., Abramczyk O., Phadwal K., Li J.L., Simon A.K., Murray J.T., Harris A.L.* Transcriptional up-regulation of ULK1 by ATF4 contributes to cancer cell survival. Biochem J. 2013; 449: 389–400. doi: 10.1042/BJ20120972.
23. *Tang J., Deng R., Luo R.Z., Shen G.P., Cai M.Y., Du Z.M., Jiang S., Yang M.T., Fu J.H., Zhu X.F.* Low expression of ULK1 is associated with operable breast cancer progression and is an adverse prognostic marker of survival for patients. Breast Cancer Res Treat. 2012; 134: 549–60. doi: 10.1007/s10549-012-2080-y.
24. *Gao C., Cao W., Bao L., Zuo W., Xie G., Cai T., Fu W., Zhang J., Wu W., Zhang X., Chen Y.G.* Autophagy negatively regulates Wnt signalling by promoting Dishevelled degradation. Nature Cell Biology. 2010; 12 (8): 781–90. doi: 10.1038/ncb2082.
25. *Linares J.F., Amanchy R., Greis K., Diaz-Meco M.T., Moscat J.* Phosphorylation of p62 by cdk1 controls the timely transit of cells through mitosis and tumor cell proliferation. Mol Cell Biol. 2011; 31 (1): 105–117. doi: 10.1128/mcb.00620-10.
26. *Jeong W.J., Cha P.H., Choi K.Y.* Strategies to overcome resistance to epidermal growth factor receptor monoclonal antibody therapy in

metastatic colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2014 Aug 7; 20 (29): 9862–71. doi: 10.3748/wjg.v20.i29.9862.

27. *Chen Z., Gao S., Wang D., Song D., Feng Y.* Colorectal cancer cells are resistant to anti-EGFR monoclonal antibody through adapted autophagy. *Am J Transpl Res*. 2016; 8 (2): 1190–6. eCollection 2016.

28. *Mei Q., Li F., Qian H., Liu Y., Xu H.* Busulfan inhibits growth of human osteosarcoma through miR-200 family microRNAs in vitro and in vivo. *Cancer Sci*. 2014; 105: 755–762. doi: 10.1111/cas.12436.

29. *Liu G., Jiang C., Li D., Wang R., Wang W.* MiRNA-34a inhibits EGFR-signaling-dependent MMP7 activation in gastric cancer. *Tumour Biol*. 2014 Oct; 35 (10): 9801–6. doi: 10.1007/s13277-014-2273-6.

30. *Zhu H., Wu H., Liu X., Li B., Chen Y., Ren X., Liu C.G., Yang J.M.* Regulation of autophagy by a beclin 1-targeted microRNA, miR-30a, in cancer cells. *Autophagy*. 2009; 5 (6): 816–823.

31. *Minder P., Zajac E., Quigley J.P., Deryugina E.I.* EGFR Regulates the Development and Microarchitecture of Intratumoral Angiogenic Vasculature Capable of Sustaining Cancer Cell Intravasation. *Neoplasia*. 2015; 17 (8): 634–49 doi: 10.1016/j.neo.2015.08.002.

32. *Mousa L., Salem M.E., Mikhail S.* Biomarkers of Angiogenesis in Colorectal Cancer. *Biomarkers in cancer*. 2015; 7 (suppl 1): 13–19. doi:10.4137/BIC.S25250.

33. *Jain R.K.* Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy. *Science*. 2005; 307 (5706): 58–62. doi: 10.1126/science.1104819.

34. *Brown L.F., Berse B., Jackman R.W., Tognazzi K., Manseau E.J., Senger D.R., Dvorak H.F.* Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in adenocarcinomas of the gastrointestinal tract. *Cancer Res*. 1993; 53(19): 4727–4735.

35. *Jantus-Lewintre E., Sanmartin E., Sirera R., Blasco A., Sanchez J.J., Taron M., Rosell R., Camps C.* Combined VEGF-A and VEGFR-2 concentrations in plasma: diagnostic and prognostic implications in patients with advanced NSCLC. *Lung Cancer*. 2011 Nov; 74 (2): 326–31. doi: 10.1016/j.lungcan.2011.02.016.

36. *Zhang S.D., McCrudden C.M., Meng C., Lin Y., Kwok H.F.* The significance of combining VEGFA, FLT1, and KDR expressions in colon cancer patient prognosis and predicting response to bevacizumab. *Oncotargets Ther*. 2015; 8: 835–843. doi: 10.2147/OTT.S80518.

37. *Stiegelbauer V., Perakis S., Deutsch A., Ling H., Gerger A., Pichler M.* MicroRNAs as novel predictive biomarkers and therapeutic targets in colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2014; 20 (33): 11727–11735. doi: 10.3748/wjg.v20.i33.11727.

38. *Hansen T.F., Christensen R.D., Andersen R.F., Sørensen F.B., Johansson A., Jakobsen A.* MicroRNA-126 and epidermal growth factor-like domain 7—an angiogenic couple of importance in metastatic colorectal

cancer. Results from the Nordic ACT trial. *Br J Cancer*. 2013; 109 (5): 1243–51. doi: 10.1038/bjc.2013.448.

39. *Pietrzyk L.* Biomarkers Discovery for Colorectal Cancer: A Review on Tumor Endothelial Markers as Perspective Candidates. *Disease Markers*. 2016; 2016: 1–11. doi: 10.1155/2016/4912405.

40. *St Croix B., Rago C., Velculescu V., Traverso G., Romans K.E., Montgomery E., Lal A., Riggins G.J., Lengauer C., Vogelstein B., Kinzler K.W.* Genes expressed in human tumor endothelium. *Science*. 2000; 289: 1197–1202. doi: 10.1126/science.289.5482.1197.

41. *Mehran R., Nilsson M., Khajavi M., Du Z., Cascone T., Wu H.K., Cortes A., Xu L., Zurita A., Schier R., Riedel B., El-Zein R., Heymach J.V.* Tumor endothelial markers define novel subsets of cancer-specific circulating endothelial cells associated with antitumor efficacy. *Cancer Res*. 2014; 74 (10): 2731–41. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-2044.

42. *Carson-Walter E.B., Watkins D.N., Nanda A., Vogelstein B., Kinzler K.W., St Croix B.* Cell surface tumor endothelial markers are conserved in mice and humans. *Cancer Res*. 2001; 61 (18): 6649–55.

43. *Rmali K.A., Puntis M.C.A., Jiang W.G.* Prognostic values of tumor endothelial markers in patients with colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2005 Mar 7; 11(9): 1283–6.

44. *Tomkowicz B., Rybinski K., Foley B., Ebel W., Kline B., Routhier E., Sass P., Nicolaides N.C., Grasso L., Zhou Y.* Interaction of endosialin/TEM1 with extracellular matrix proteins mediates cell adhesion and migration. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007; 104 (46): 17965–70. doi: 10.1073/pnas.0705647104.

45. *Davies G., Cunnick G.H., Mansel R.E., Mason M.D., Jiang W.G.* Levels of expression of endothelial markers specific to tumour-associated endothelial cells and their correlation with prognosis in patients with breast cancer. *Clin Exp Metastasis*. 2004; 21 (1): 31–37. doi: 10.1023/B:CLIN.0000017168.83616.d.

46. *Dolznic H., Schweifer N., Puri C., Kraut N., Retting W.J., Kerjaschki D., Garin-Chesa P.* Characterization of cancer stroma markers: In silico analysis of an mRNA expression database for fibroblast activation protein and endosialin. *Cancer Imm*. 2005; 5: 10.

47. *Brady J., Neal J., Sadakar N., Gasque P.* Human endosialin (tumor endothelial marker 1) is abundantly expressed in highly malignant and invasive brain tumors. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2004; 63 (12): 1274–1283. doi: 10.1093/jnen/63.12.1274.

48. *Huber M.A., Kraut N., Schweifer N., Dolznic H., Peter R.U., Schubert R.D., Scharffetter-Kochanek K., Pehamberger H., Garin-Chesa P.* Expression of stromal cell markers in distinct compartments of human skin cancers. *J Cutan Pathol*. 2006; 33 (2): 145–155. doi:10.1111/j.0303-6987.2006.00446.x.

Received 24.09.17
Accepted 16.10.17

ABOUT THE AUTHORS

Kirill V. Rachkovsky, Postgraduate, Department of Pathological Anatomy and Cytology, Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). E-mail: kirillvr@yandex.ru. SPIN-code: 6814-7094.

Sergey B. Vtorushin, MD, DSc, Professor, Pathological Anatomy Department, Siberian State Medical University; Senior Researcher of the Department of Pathological Anatomy and Cytology of Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Medical Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: wtorushin@rambler.ru. SPIN-code: 2442-4720.

Marina V. Zavyalova, MD, DSc, Professor, Head of Pathological Anatomy Department, Siberian State Medical University; Senior Researcher of the Department of Pathological Anatomy and Cytology, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Medical Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: zavyalovamv@mail.ru. SPIN-code: 1229-0323.

Ivan V. Stepanov, MD, PhD, Assistant Professor, Pathological Anatomy Department, Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). E-mail: ivanstepanov@sibmail.com. SPIN-code: 5930-3160.

Sergey S. Naumov, student, Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). E-mail: serg.nau2011@gmail.com.

Sergey G. Afanasyev, MD, DSc, Professor, Leading Researcher, Thoracic and Abdominal Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Medical Science (Tomsk, Russia). E-mail: AfanasyevSG@oncology.tomsk.ru. SPIN-code: 9206-3037.

Authors declare lack of the possible conflicts of interests