

DOI: 10.21294/1814-4861-2021-20-1-62-73
УДК: 618.11-006.6-092.18-08:615.28];577.21

Для цитирования: *Генинг С.О., Ризванов А.А., Абакумова Т.В., Долгова Д.Р., Гафурбаева Д.У., Рахматуллина А.Р., Антонеева И.И., Генинг Т.П.* Взаимосвязь уровней воспалительных цитокинов крови и числа циркулирующих опухолевых клеток с ответом на стандартную химиотерапию у больных раком яичников. Сибирский онкологический журнал. 2021; 20(1): 62–73. – doi: 10.21294/1814-4861-2021-20-1-62-73

For citation: *Gening S.O., Rizvanov A.A., Abakumova T.V., Dolgova D.R., Gafurbaeva D.U., Rakhmatullina A.R., Antonееva I.I., Gening T.P.* Relationship between the blood levels of inflammatory cytokines and the number of circulating tumor cells with response to standard chemotherapy in patients with ovarian cancer. Siberian Journal of Oncology. 2021; 20(1): 62–73. – doi: 10.21294/1814-4861-2021-20-1-62-73

ВЗАИМОСВЯЗЬ УРОВНЕЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ КРОВИ И ЧИСЛА ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК С ОТВЕТОМ НА СТАНДАРТНУЮ ХИМИОТЕРАПИЮ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКОВ

**С.О. Генинг¹, А.А. Ризванов², Т.В. Абакумова¹, Д.Р. Долгова¹,
Д.У. Гафурбаева², А.Р. Рахматуллина², И.И. Антонеева^{1,3}, Т.П. Генинг¹**

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск, Россия¹

Россия, 432017, г. Ульяновск, ул. Льва Толстого, 42. E-mail: sgening@bk.ru¹

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань, Россия²

Россия, 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, 18²

ГУЗ «Областной клинический онкологический диспансер», г. Ульяновск, Россия³

Россия, 432017, г. Ульяновск, ул. 12 Сентября, 90³

Аннотация

Введение. Сывороточные хемокины – медиаторы воспаления, роль которых доказана в возникновении и прогрессировании злокачественных опухолей ряда локализаций. Продуцируясь лейкоцитами, стволовыми, опухолевыми и эндотелиальными клетками, хемокины контролируют их движение и позиционирование. Хроническое воспаление лежит в основе прогрессирования рака яичников (РЯ), и это повышает вероятность стимулирования или блокирования хемокинами прогрессирования опухоли. **Целью исследования** было изучение взаимосвязи уровней воспалительных цитокинов крови и числа циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) с ответом на стандартную химиотерапию у больных РЯ. **Материал и методы.** У пациенток с первичным РЯ до и после 2–4 курсов химиотерапии (ХТ) и пациенток с доброкачественными опухолями яичников (контроль) в сыворотке крови уровни CCL2, CCL3, CCL4, CXCL8 и CX3CL1 оценивали методом мультиплексного анализа xMAP. Количество ЦОК (популяция CD45-/Ersam+/CK+) определяли на проточном цитометре. Пациентки с РЯ были разделены на 3 группы по критерию платиночувствительности согласно GCJG 4th, было определено время до прогрессирования (PFI). **Результаты.** Установлено, что уровень CCL2, CCL3, CCL4, CXCL8 и CX3CL1 при РЯ значимо не отличался от такового в контроле, отрицательно коррелировал с возрастом (за исключением уровня CCL2). Химиотерапия значимо повышала уровень CCL2 в группе рефрактерного РЯ; CCL3 – в группе чувствительного РЯ, CCL4 – в группах резистентного и чувствительного РЯ, CXCL8 – повышала в группах с резистентным и чувствительным РЯ и снижала в группе рефрактерного РЯ. Количество ЦОК у больных с РЯ значимо выше, чем в контроле. После ХТ снижение количества ЦОК достоверно коррелировало со снижением уровня CX3CL1 в группах рефрактерного и чувствительного РЯ. Максимальная продолжительность периода без прогрессирования отмечена при повышении уровней CCL3, CXCL8, снижении уровня CCL4 и неизменном уровне CX3CL1. **Выводы.** Уровни CCL2, CCL3, CCL4 и IL-8 значимо не различаются у больных РЯ и группы контроля. Уровни изученных хемокинов и количество ЦОК изменялись в группах с различной чувствительностью опухоли к ХТ. При платиночувствительном РЯ наблюдаются значимые корреляции количества ЦОК и уровня CX3CL1 в сыворотке крови до лечения.

Ключевые слова: рак яичников, циркулирующие опухолевые клетки, химиотерапия, платинорезистентность, CCL2, CCL3, CCL4, CXCL8, CX3CL1.

RELATIONSHIP BETWEEN THE BLOOD LEVELS OF INFLAMMATORY CYTOKINES AND THE NUMBER OF CIRCULATING TUMOR CELLS WITH RESPONSE TO STANDARD CHEMOTHERAPY IN PATIENTS WITH OVARIAN CANCER

S.O. Gening¹, A.A. Rizvanov², T.V. Abakumova¹, D.R. Dolgova¹,
D.U. Gafurbaeva², A.R. Rakhmatullina², I.I. Antoneeva^{1,3}, T.P. Gening¹

Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia¹
42, Leo Tolstoy St., 432017, Ulyanovsk, Russia. E-mail: sgening@bk.ru¹
Kazan Federal University, Kazan, Russia²
18, Kremlevskaya St., 420008, Kazan, Russia²
Regional Clinical Oncology Center, Ulyanovsk, Russia³
90, 12 September St., 432017, Ulyanovsk, Russia³

Abstract

Introduction. Serum chemokines are inflammatory mediators, which role is shown in the occurrence and progression of a number of malignant tumors. Produced by white blood cells, stem cells, tumor and endothelial cells, chemokines control their movement and positioning. Chronic inflammation underlies the progression of ovarian cancer (OC). This increases the likelihood of chemokines stimulating or blocking tumor progression. **The aim of the study** was to evaluate the relationship between the blood levels of inflammatory cytokines in blood and the number of circulating tumor cells (CTCs) with the response to standard chemotherapy (CT) in patients with cancer. **Material and Methods.** In patients with primary OC before and after 2–4 courses of chemotherapy and in patients with benign ovarian tumors (as a control), serum levels of CCL2, CCL3, CCL4, CXCL8 and CX3CL1 were evaluated by multiplex xMAP analysis. The amount of CTCs (population CD45-/Epcam+/CK+) was determined using a flow cytometer. Patients with ovarian cancer were divided into 3 groups according to the platinum sensitivity criterion of GCJG 4th, and progression-free interval (PFI) was determined. **Results.** It was found that the levels of CCL2, CCL3, CCL4, CXCL8, and CX3CL1 in case of OC did not significantly differ from that in the control, strongly negatively correlated with age (except for the CCL2 level). CT significantly increased the level of CCL2 in the group of refractory OC; of CCL3 – in the group of sensitive OC, of CCL4 – in the groups of resistant and sensitive OC, and CXCL8 level increased in the groups with resistant and sensitive OC and decreased in the group of refractory OC. The number of CTCs in patients with OC was significantly higher than in the control. After CT, a decrease in the amount of CTCs strongly and significantly correlated with a decrease in the level of CX3CL1 in the groups of refractory and sensitive OC. The maximum PFI occurred with an increase in serum levels of CCL3, CXCL8, a decrease in CCL4 and a constant level of CX3CL1. **Conclusion.** Thus, no significant differences in the levels of CCL2, CCL3, CCL4, and IL-8 between patients with OC and control groups were found. The levels of chemokines studied and the amount of CTCs differed in the groups divided by the tumor sensitivity to CT. We observed significant correlations between the amount of CTCs and the level of CX3CL1 in the group of platinum-sensitive OC.

Key words: Ovarian cancer, circulating tumor cells, chemotherapy, platinum resistance, CCL2, CCL3, CCL4, CXCL8, CX3CL1.

Введение

Рак яичников (РЯ) является высоко летальным злокачественным новообразованием вследствие отсутствия специфических симптомов и биомаркеров для своевременной диагностики. Хроническое воспаление лежит в основе прогрессирования РЯ, и это повышает вероятность того, что хемокины, участвующие в воспалительном процессе, могут стимулировать или блокировать прогрессирование опухоли. Растворимые воспалительные медиаторы участвуют в возникновении и прогрессировании злокачественных опухолей ряда

локализаций [1]. При этом не только воспаление вызывает рак, но и рак вызывает воспаление, поскольку опухоль продуцирует *de novo* медиаторы воспаления, хемокины и их рецепторы. В основе воспалительных реакций, вызываемых опухолью, лежит ряд механизмов. В первую очередь это выделение опухолевыми и стромальными клетками хемоаттрактантов, которые привлекают макрофаги и нейтрофилы [2]. Эти клетки продуцируют хемокины, усиливающие воспалительный ответ. Хемокины – это группа небольших белков, имеющих свои рецепторы на клеточной мембране, которые

контролируют движение и позиционирование лейкоцитов, стволовых и эндотелиальных клеток. Хемокины делят на группы: С, СС, СХС и СХЗС. При этом хемокиновые лиганды могут связываться с несколькими различными хемокиновыми рецепторами. Согласно современным представлениям, система хемокинов – жестко регулируемая сложная система с временным и пространственным контролем. Экспрессия хемокинов опухолевыми клетками яичников контролируется на уровне регуляции транскрипции, посттранскрипционной регуляции и регуляции стабильности мРНК, трансляции мРНК и механизмов, регулирующих внутриклеточное хранение, высвобождение и транспорт цитокинов [3]. СС-хемокины представляют основные аттрактанты предшественников моноцитов и макрофагов к микроокружению опухоли. Хемокины этого семейства синтезируются моноцитами/макрофагами, нейтрофилами, дендритными клетками и лимфоцитами. Праймированные воздействием опухолевых клеток НК-клетки продуцируют высокие уровни CCL3 и CCL4, которые в дальнейшем способствуют привлечению иммунных эффекторов в опухоль [4]. Секреция опухолевыми клетками СС-хемокинов, особенно CCL2, способствует росту и распространению опухоли [5]. Исследования с участием хемокинов *in vitro* и *in vivo* идентифицировали CCL3 в качестве основного медиатора, связывающего неопластический эпителий и периферические ткани [5]. CCL3 и CCL4 также принадлежат к семейству СС-хемокинов. Пристальное внимание исследователей привлекает CCL5 – представитель этого же семейства. Существует мнение, что CCL5 является протуморогенным хемокином, однако роль его и его рецепторов при РЯ не представляется определенной [6]. Внутрибрюшинные метастазы являются частым явлением и связаны с плохим прогнозом при РЯ. Их образование предполагает, что в брюшной полости секреторуются факторы, направляющие метастатические опухолевые клетки яичника в соответствующие ниши для формирования метастазов. Показано, что CXCL-8 является ключевым хемокином в метастатическом распространении опухолевых клеток яичников в брюшной полости [7]. CXCL8/IL-8 секреторуются многими типами клеток после их стимуляции: эндотелиальными клетками, Т-лимфоцитами, макрофагами, опухолевыми клетками. Особенностью экспрессии гена CXCL8 является ее быстрая активация. CXCL8 реализует своё действие, связываясь с рецепторами CXCR1 и CXCR2. При действии CXCL8 на нейтрофилы *in vitro* повышается уровень внутриклеточного Ca²⁺, высвобождаются азурофильные и содержащие матриксную металлопротеиназу (ММП)-9 гранулы, происходит респираторный взрыв, изменяется форма нейтрофилов [8]. Действуя на рецепторы CXCR2 на мезенхимальных стволовых клетках, CXCL-8 увеличивает уровень их миграции и за-

пускает в них синтез и секрецию проангиогенных факторов, в том числе васкулоэндотелиальный фактор роста [9]. Fractalkine/CX3CL1 – единственный член подкласса СХЗС хемокинов, который имеет растворимую и мембраносвязанную форму. Экспрессируется в месте воспаления, привлекает и активирует НК-клетки, что приводит в дальнейшем к лизису соседних эндотелиальных клеток. Помимо НК-клеток, CX3CL1 проявляет хемотаксическую активность для моноцитов и Т-клеток, действует как молекула адгезии к лейкоцитам и усиливает экстравазацию лейкоцитов. В обзоре F. Marchesi et al. (2010) показана экспрессия CX3CL1 на различных опухолевых клетках, а его рецептор CX3CR может содействовать метастазированию. В то же время показано, что CX3CL1 обладает активностью подавления опухолей на различных моделях подкожной имплантации у мышей. Высокая экспрессия CX3CL1 – маркер лучшего прогноза у больных колоректальным раком [10].

Появляется все больше доказательств того, что экспрессия хемокинов опухолевыми клетками модулирует не только развитие рака, но и чувствительность к химиотерапии (ХТ) [11]. Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) могут становиться источником будущих метастазов; они проникают в кровеносное русло, где могут находиться в виде единичных клеток и кластеров. В органе-мишени ЦОК могут находиться в состоянии покоя, длительность которого определяется в том числе и свойствами микроокружения. При этом ЦОК не только дают начало отдаленным метастазам, но, самообсеменяя опухоль, инициируют экспансию более агрессивного клона. При ряде локализаций опухоли, в том числе при РЯ, описан феномен эпителиальной пластичности, объясняющий существование различных фенотипов ЦОК, более или менее агрессивных в зависимости от состояния эпителиально-мезенхимального перехода и наличия стволовых признаков [12]. В кровотоке и микроокружении опухоли ЦОК взаимодействуют с хемокинами – основными участниками в процессе хемотаксиса, обеспечивающего ангиогенез, инвазию метастазирование и уклонение опухоли от контроля иммунной системы.

Цель исследования – изучение взаимосвязи уровней воспалительных цитокинов крови и числа ЦОК с ответом на стандартную химиотерапию (ХТ) у больных РЯ.

Материал и методы

В исследование включены 46 пациенток с первичным верифицированным РЯ I–IV стадии по FIGO в возрасте 50–70 лет (медиана – 62 года), проходивших лечение в гинекологическом отделении Областного клинического онкологического диспансера г. Ульяновска в 2018–19 гг. (табл. 1). Критериями включения в исследование были:

Таблица 1/Table 1

Клинические характеристики больных раком яичников
Clinical characteristics of ovarian cancer patients

Клиническая характеристика/Clinical characteristics	Число пациенток/Number of patients
Возраст/Age	
Репродуктивный период/Reproductive period	6
Постменопауза/Postmenopause	40
Стадия FIGO/FIGO stage	
I	4
II	2
III	29
IV	11
Стадия T/Stage T	
T1	4
T2	2
T3	40
Стадия N/Stage N	
Nx	16
N0	11
N1	19
Стадия M/Stage M	
M0	36
M1	10
Гистологический подтип/Histological subtype	
Серозный/Serous	20
Муцинозный/Mucinous	3
Эндометриоидный/Endometrioid	2
Светлоклеточный/Clear cell	3
Недифференцированный/Undifferentiated	3
Не определялся из-за CRS 3/Not determined due to CRS 3	3
Не получен гистоанализ (цитологическая верификация)/ Histological analysis not obtained (cytological verification)	12
Режим химиотерапии/Chemotherapy regimen	
Неoadъювантная химиотерапия/Neoadjuvant chemotherapy	34
Адъювантная химиотерапия/Adjuvant chemotherapy	12
Циторедуктивная операция/Cytoreductive surgery	
Проводилась/Was performed	31
Не проводилась/Was not performed	15

отсутствие острых заболеваний любой этиологии, хронических инфекционных заболеваний, отсутствие хирургических вмешательств в предшествующие 12 мес и синхронно развивающихся злокачественных опухолей. В группу сравнения вошли 16 пациенток, получавших хирургическое лечение по поводу доброкачественных опухолей яичников в возрасте 40–60 лет (медиана – 55 лет) без онкологически отягощенного анамнеза. Письменное информированное согласие в соответствии с принципами Хельсинкской декларации (2013 г.) получено от всех участниц исследования. Исследование было одобрено Этическим комитетом ИМЭиФК Ульяновского государственного университета (протокол № 3 от 15.03.2017).

Образцы плазмы крови забирали до получения пациенткой какого-либо специального противоопухолевого лечения и после 2–4 курсов платиносодержащей ХТ по схеме TP (карбоплатин AUC6 +

паклитаксел 175 мг/м² внутривенно капельно 1 раз в 3 нед) в адъювантном либо неoadъювантном режиме. У пациенток, получавших неoadъювантную терапию, второй забор крови производили до циторедуктивной операции. Решение об использовании режима ХТ принимали исходя из возможности проведения оптимальной циторедукции при первичной диагностике. Контроль эффективности неoadъювантной химиотерапии осуществлялся по клиническим, ультразвуковым параметрам, МРТ малого таза и динамике опухолевого маркера СА-125 в сыворотке крови. Хирургическое лечение включало гистерэктомия с двухсторонней сальпингоофорэктомией и оментэктомией. Получение образцов от контрольной группы производилось однократно до хирургического лечения. Все пациентки с РЯ бы разделены на 3 группы по критерию длительности бесплатинового интервала до прогрессирования болезни в соответствии с

рекомендациями GCJG 4th: платинорезистентный РЯ (прогрессирование во время и менее чем через 4 нед после окончания ХТ; платинорезистентный РЯ (ранний рецидив – менее чем через 6 мес после проведения последнего курса ХТ) и платиночувствительный РЯ (рецидив более чем через 6 мес); было определено время до прогрессирования с момента включения в исследование (progression-free interval – PFI).

В исследовании произведен подсчет количества ЦОК методом проточной цитометрии с использованием тройной флуоресцентной метки на приборе Cytoflex S (Beckman Coulter, США). Из 7,5 мл стабилизированной цитратом натрия крови выделялась моноклеарная фракция клеток методом центрифугирования на градиенте фиколла (плотность 1,077 см³) [13, 14]. После выделения моноклеарные клетки дважды отмывались фосфатно-солевым буферным раствором Дульбекко (ФСБ-Д). Окрашивание клеток выполняли следующим образом: в 1,5-мл пробирках образцы клеток ресуспендировали в ФСБ-Д с содержанием 1 % фетальной бычьей сыворотки с плотностью 1×10^6 клеток в 100 мкл. В пробирки с образцами вносили по 5 мкл моноклональных антител к CD45, EpCAM (CD326) (BioLegend, США) и к цитокератинам (CK pan) (SigmaAldrich, США), меченных FITC, Pe-Cy7 и PE соответственно, и инкубировали в течение 40 мин при 4 °C в темноте. По истечении времени инкубации в пробирки вносили двойной объем ФСБ-Д с содержанием 1 % фетальной бычьей сыворотки и осаждали клетки центрифугированием 5 мин при 400 g. Супернатант сливали и ресуспендировали клетки в 100 мкл ФСБ-Д для дальнейшего анализа на приборе.

Обработка результатов проводилась с помощью программы CytExpert Software. Анализировали не менее 100 000 событий в секторе живых клеток моноклеарной фракции. Для разделения лейкоцитарных фракций крови и атипичных клеток нелейкоцитарной природы использовали дискриминацию по уровню связывания с CD45. Отрицательную по данному признаку популяцию использовали для дальнейшего анализа. Подсчет количества ЦОК производили по графику распределения интенсивности связывания антител к EpCAM и СК. За ЦОК была принята популяция CD45-отрицательных, EpCAM и СК-положительных клеток (CD45-/EpCAM+/СК+) [15].

Хемокиновый профиль сыворотки крови: уровни CCL2, CCL3, CCL4, CXCL8 и CX3CL1 оценивали методом мультиплексного анализа на анализаторе Biorplex®200™ (Bio-Rad) технологии xMap Lumiplex с использованием набора Milliplex (HCYT MAG-60K-PX41) (Merck KGaA, Germany) в соответствии с инструкцией фирмы-производителя. Оценку нормальности распределения выборки проводили по критерию Шапиро–Уилка. Связь между клиническими и молекулярными параме-

трами анализировалась с использованием One-way ANOVA и корреляционных связей по Спирмену, для оценки различий между независимыми группами использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. Для оценки различий у больных РЯ до и после ХТ использовали критерий Вилкоксона. Для оценки PFI больных РЯ использовали критерий Каплан–Майера (Statistica 13.0). Статистически значимыми считались значения при $p \leq 0,05$.

Результаты

В результате исследования установлено, что сывороточный уровень CCL2, экспрессия которого показана для РЯ [16], значимо не отличается у больных РЯ и пациенток с доброкачественными опухолями яичников до лечения (рис. 1), не коррелирует с возрастом пациенток и с наличием у них асцита. При этом уровень CCL2 в сыворотке значимо повышается после ХТ в группе рефрактерного РЯ и положительно коррелирует с уровнем СА-125 ($r=0,638$, $p<0,05$) (табл. 2).

К семейству СС-хемокинов принадлежат также CCL3 и CCL4. В нашем исследовании сывороточный уровень CCL3 при первичной диагностике значимо не отличается от такого при доброкачественных опухолях яичников (рис. 1), не коррелирует с наличием асцита, уровнем СА-125. Уровень CCL3 достоверно повышается после ХТ в группе чувствительного РЯ (табл. 2). Также установлена отрицательная средней силы корреляция уровня CCL3 с возрастом пациентки ($r=-0,443$, $p=0,054$).

Сывороточный уровень CCL4 в нашей выборке значимо не отличается при РЯ от такого при доброкачественных опухолях яичников до лечения (рис. 1), достоверно повышается после 3 курсов первой линии платиносодержащей ХТ в группе платинорезистентного и платиночувствительного РЯ (табл. 2), не коррелирует с наличием асцита и уровнем СА-125. Однако уровень этого хемокина в целом отрицательно коррелирует с возрастом ($r=-0,491$, $p=0,032$).

Нами установлено, что сывороточный уровень CXCL8 у первичных больных РЯ значимо не отличается от такого при доброкачественных опухолях яичников до лечения (рис. 1), однако на фоне платиносодержащей ХТ уровень CXCL8 значимо снижается в группе с рефрактерным РЯ и достоверно повышается у пациенток с резистентным РЯ и чувствительным РЯ (табл. 2). Уровень CXCL8 значимо отличается в группах с различной чувствительностью к платиносодержащей ХТ ($p=0,020$), не коррелирует с наличием асцита, с уровнем СА-125 и отрицательно коррелирует с возрастом ($r=-0,625$, $p=0,016$).

Мы наблюдали значимое снижение по сравнению с контролем уровня CX3CL1 до начала ХТ в группе с рефрактерным РЯ ($p=0,009$); с резистентным РЯ ($p=0,005$) и в группе с чувствительным РЯ ($p=0,014$). После ХТ уровень сывороточного CX3CL1 значимо

снижается в группе платиночувствительного РЯ (табл. 2). При этом корреляция с возрастом отрицательная ($r=-0,604$, $p=0,015$); с СА125 – положительная средней силы ($r=0,479$, $p=0,023$).

Весьма любопытная ситуация с уровнем CX3CL1 у пациенток с асцитом. До ХТ уровень CX3CL1 у пациенток с асцитом значимо выше, чем у больных без асцита ($p=0,00047$). После

ХТ уровень CX3CL1 у пациенток с асцитом еще возрастает, а у больных без асцита резко падает ($p=0,0001$).

В нашем исследовании количество ЦОК у пациенток с РЯ было значимо выше, чем у больных с доброкачественными опухолями яичников до лечения (2,5 (04,00)), как до ($p=0,001$), так и после ($p=0,001$) 24 курсов платиносодержащей ХТ. При этом разли-

Таблица 2/Table 2

Сывороточный уровень хемокинов у больных раком яичников с различной чувствительностью к платиносодержащей химиотерапии

Serum chemokine levels in ovarian cancer (OC) patients with different sensitivity to platinum-containing chemotherapy

Показатели/ Indicators	Медиана/Median (LQ-UQ)					
	Платинорефрактерный РЯ / Platinum-refractory OC (n=10)		Платинорезистентный РЯ/ Platinum-resistant OC (n=20)		Платиночувствительный РЯ/ Platinum-sensitive OC (n=16)	
	До ХТ/ Before CT	После ХТ/ After CT	До ХТ/ Before CT	После ХТ/ After CT	До ХТ/ Before CT	После ХТ/ After CT
CCL2/MCP-1	297,55 (284,36–397,39)	487,29 (388,94–522,14)	332,00 (246,50–554,75)	310,84 (91,26–485,00)	335,13 (269,33–564,50)	347,50 (233,16–833,24)
p	0,038		0,490		0,780	
CCL3/MIP-1 α	5,42 (3,32–11,49)	5,5 (4,36–6,60)	3,77 (2,50–6,31)	4,340 (2,33–19,81)	4,78 (2,75–7,30)	8,55 (6,69–17,21)
p	0,684		0,678		0,017	
CCL4/MIP-1 β	32,77 (31,33–44,50)	39,72 (30,7941,03)	22,75 (4,01–37,75)	36,25 (24,77–45,55)	33,50 (25,75–54,56)	44,64 (36,31–60,72)
p	0,911		0,016		0,050	
CXCL8/IL-8	37,17 (31,61–70,58)	15,05 (9,50–17,05)	25,15 (6,90–42,36)	45,99 (10,29–110,96)	17,14 (11,28–40,51)	31,02 (27,81–32,25)
p	0,028		0,046		0,050	
CX3CL1/ Fractalkine	57,63 (8,90–103,93)	109,11 (70,39–136,99)	72,14 (8,41–108,67)	55,32 (5,66–110,23)	67,63 (28,88–92,04)	34,48 (9,61–54,56)
p	0,165		0,658		0,001	

Примечание: p – различия значимо отличаются по сравнению с показателями до ХТ.

Note: p – statistically significantly different compared with corresponding data before CT.

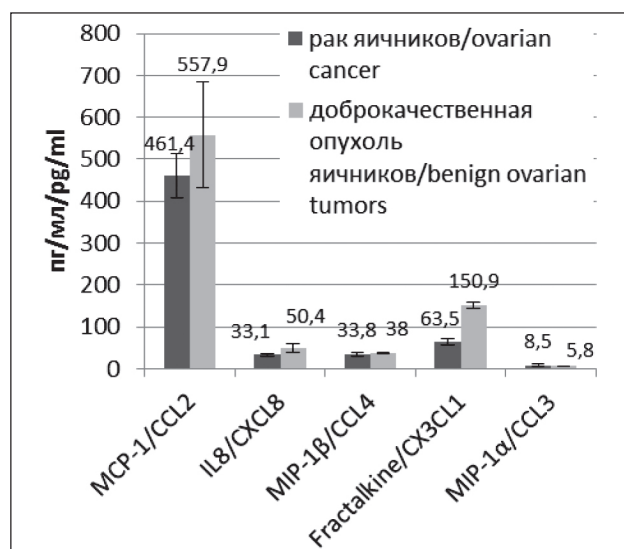


Рис. 1. Соотношение хемокинов в группе женщин при РЯ и при доброкачественной опухоли яичников
Fig. 1. The ratio of chemokines content in groups of women with ovarian cancer and benign ovarian tumors

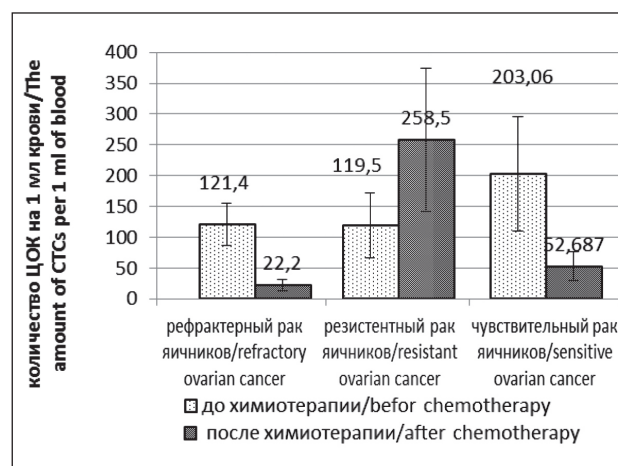


Рис. 2. Количество ЦОК у больных раком яичников с различной чувствительностью к платиносодержащей химиотерапии
Fig. 2. The amount of CTCs in patients with ovarian cancer with different sensitivity to platinum-containing chemotherapy

чие в целом в группе пациенток с РЯ до и после ХТ статистически не значимо ($p=0,831$) (рис. 2).

После ХТ количество ЦОК значимо снижено в группе платинорефрактерного РЯ ($p=0,028$). У пациенток с платинорезистентным РЯ количество ЦОК после ХТ существенно возрастает ($p=0,058$), а в группе с платиночувствительным РЯ не изменяется ($p=0,791$). Однако при построении графика зависимости выживаемости без прогрессирования от динамики числа ЦОК на фоне химиотерапии существенных различий не наблюдалось (рис. 3).

При этом значительные отрицательные корреляционные связи имеют место до ХТ между уровнем ЦОК и CX3CL1 при платиночувствительном РЯ ($r=-0,873$, $p=0,009$); уровнем ЦОК и CCL4 при платинорезистентном РЯ ($r=-0,728$, $p=0,011$). Положительные корреляционные связи имеют место между уровнем ЦОК и CX3CL1 после ХТ в группах резистентного ($r=0,681$, $p=0,035$) и чувствительного ($r=0,788$, $p=0,019$) РЯ.

При анализе динамики уровней хемокинов на фоне платиносодержащей ХТ с позиций продолжительности периода до прогрессирования было выявлено, что при повышении уровня CCL3 после 3 курсов ХТ PFI статистически значимо увеличивался и составлял в среднем 315 дней ($p=0,046$) (рис. 4). Период до прогрессирования при неизменном уровне CX3CL1 на фоне ХТ составлял в среднем 483 дня, что статистически значимо выше, чем при повышении и понижении содержания данного хемокина после 3 курсов ХТ ($p=0,047$) (рис. 5). Снижение уровня CCL4 было статистически значимо связано с увеличением безрецидивного периода до 348 дней ($p=0,037$) (рис. 6). При повышении уровня CXCL8 после 3 курсов ХТ период без прогрессирования (PFI) статистически значимо увеличивался и составлял 315 дней ($p=0,048$) (рис. 7).

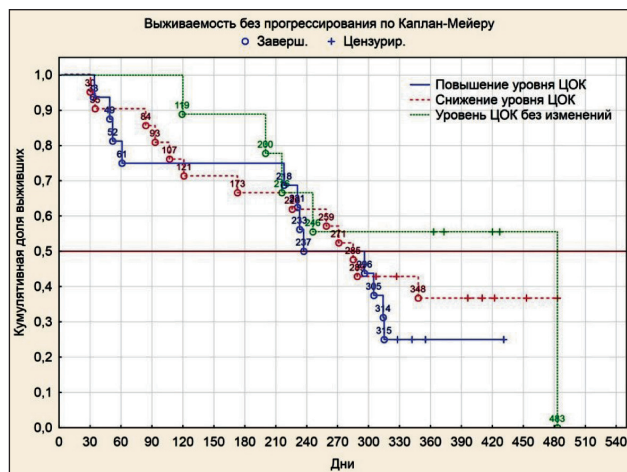


Рис. 3. Время до прогрессирования у больных РЯ после ХТ в зависимости от динамики изменения числа ЦОК
Fig. 3. Time to progression of patients with OC depending on CTC quantity change in repeated samples

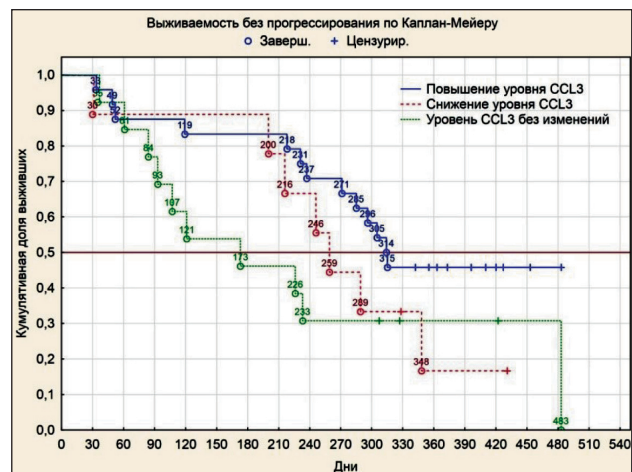


Рис.4. Время до прогрессирования у больных РЯ в зависимости от уровня CCL3
Fig. 4. Time to progression of patients with OC depending on CCL3 level

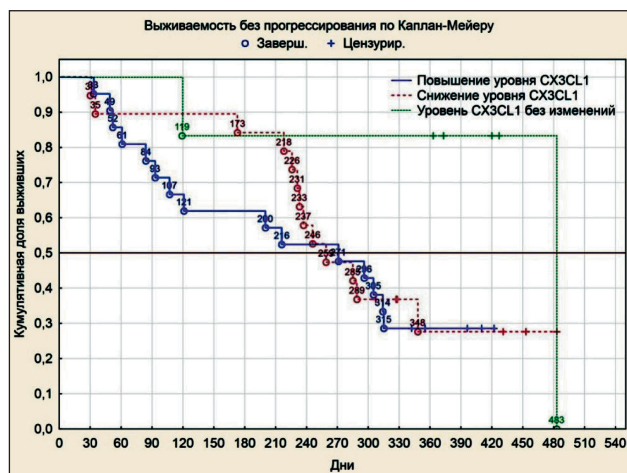


Рис. 5. Время до прогрессирования у больных РЯ в зависимости от уровня CX3CL1
Fig. 5. Time to progression of patients with OC depending on CX3CL1 level

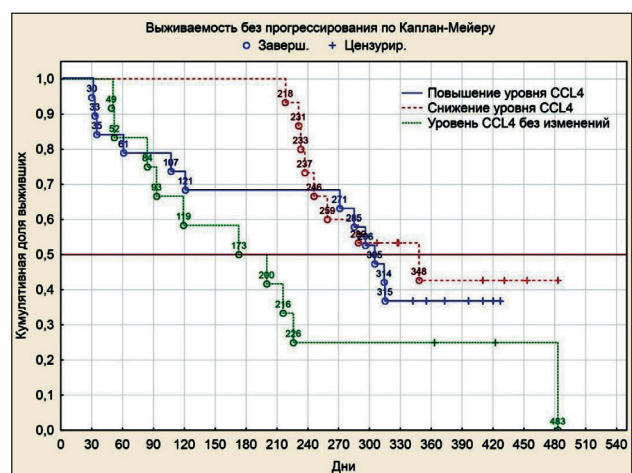


Рис.6. Время до прогрессирования у больных РЯ в зависимости от уровня CCL4
Fig. 6. Time to progression of patients with OC depending on CCL4 level

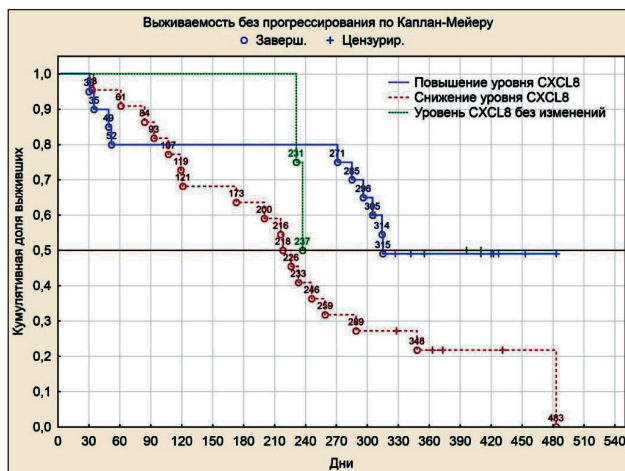


Рис. 7. Время до прогрессирования у больных РЯ в зависимости от уровня CXCL8

Fig. 7. Time to progression of patients with OC depending on CXCL8 level

Обсуждение

Первичное злокачественное новообразование приводит к значительной модификации транскриптома и протеома, сопровождающей отбор вариантов устойчивой опухоли. Результатом таких модификаций может быть усиление секреции воспалительных хемокинов, в частности CCL2 [17]. Экспрессия CCL2 регулируется посредством ядерного фактора NF-κB, индуцируемого гипоксией. Рядом авторов при эпителиальном РЯ обнаружена повышенная экспрессия CCL2 в опухолевых клетках [18]. Существовала точка зрения, что CCL2, определяя инфильтрацию макрофагами опухоли яичников, ингибирует опухолевую прогрессию [19]. Однако более поздние исследования показали, что CCL2 увеличивает инвазивность клеток РЯ и устойчивость к ХТ [20]. Под влиянием хемокинов макрофаги и нейтрофилы в окружении опухоли могут приобретать проопухолевый фенотип и продуцировать собственные хемокины, подавляющие противоопухолевый иммунитет, в том числе CCL2, который выделяют также опухоль-ассоциированные клетки эндотелия [16]. Показано, что CCL2-запускаемый каскад хемокинов в макрофагах способствует метастатическому посеву клеток рака молочной железы [21]. CCL2-ингибирование уменьшало размер опухоли, рост и метастазы в экспериментальных моделях рака молочной железы, легких, предстательной железы, печени и меланомы. В сочетании с химиотерапией, анти-CCL2-антитела улучшали терапевтическую эффективность препаратов [20]. Однако антитела анти-CCL2 показали противоречивые результаты в клинических испытаниях I и II фазы у пациентов с солидными опухолями [22]. Установленное нами повышение уровня CCL2 у больных РЯ после ХТ может объясняться его двухфазным эффектом вовлечения туморассоциированных макрофагов (ТАМ) в опухоль; большие количества CCL2 спо-

собствуют привлечению ТАМ с доминирующей противоопухолевой активностью [23]. CCL4 относится к хемокинам, которые продуцируются опухоль-ассоциированными нейтрофилами и макрофагами и подавляют противоопухолевый иммунитет, что ассоциируется с неблагоприятным прогнозом заболевания. Хемокины не только привлекают лейкоциты, но также активируют их. Показаны высокие уровни CCL3 и CCL4 в сыворотке крови пациентов с множественной миеломой, которые коррелируют с обширным поражением кости, усиленным ангиогенезом, поздней стадией заболевания и неблагоприятным прогнозом [24]. При РЯ установлено присутствие CCL3 и CCL4 в асцитической жидкости, и их уровни положительно коррелируют со степенью инфильтрации опухоли Т-лимфоцитами [25]. В то же время на мышиных моделях рака показана возможная противоопухолевая роль CCL3 [26]. У пациентов на ранних стадиях рака легкого опухоль-ассоциированные нейтрофилы с противоопухолевой ролью продуцировали CCL2, CCL3, CXCL8, стимулируя пролиферацию Т-клеток [27]. У пациентов с колоректальным раком III–IV стадии при высоком уровне CCL3 и CCL4 в сыворотке крови наблюдается худший прогноз по сравнению с пациентами с низким уровнем CCL3 и CCL4 [28]. Снижение уровня сывороточного CCL4 по сравнению с контролем и корреляция его с CA-125 выявлены у пациентов с эпителиальным РЯ [29].

CXCL8/IL-8 известен как хемокин, который секретируют опухолевые клетки, влияющий на опухолевый ангиогенез и вызывающий хемотаксис опухолевых клеток. В эксперименте *in vivo* было показано, что циркулирующие опухолевые клетки меланомы продуцировали высокие уровни CXCL-8, привлекая нейтрофилы. Последние же регулировали возникновение и развитие метастазов, способствуя сцеплению ЦОК с эндотелием сосудов [30]. Возможно, снижение уровня CXCL-8 после ХТ в группе рефрактерного РЯ может быть связано с соответствующим снижением уровня ЦОК. В эксперименте на культуре клеток РЯ было показано, что CXCL-8 индуцирует эпителиально-мезенхимальный переход и усиливает метастатический потенциал [31]. Было установлено, что повышенный его уровень в сыворотке больных РЯ IIIc стадии связан с худшим прогнозом [11].

Сообщения о клинической роли CX3CL1 при злокачественных опухолях противоречивы. У него двойная функция: хемоаттрактант лейкоцитов и молекула адгезии опухолевых клеток, и его эффекты могут быть как про- [32], так и противоопухолевыми [33]. Клетки РЯ экспрессируют как CX3CL1, так и его рецептор CX3CR1. Хемотаксис на основе этих рецепторов повышал экспрессию маркеров эпителиально-мезенхимального перехода и ММП [34]. CX3CL1 через лиганд CX3CR1 регулирует органспецифическую брюшинную

колониализацию опухолевыми клетками при РЯ [35]. Эпителиальные клетки поверхности яичника, маточных труб, доброкачественных пограничных и злокачественных опухолей яичника – все экспрессируют CX3CL1. При РЯ выявлено 2 кластера различных по экспрессии (иммуногистохимической) CX3CL1 и пролиферативной активности клеток [36]. CX3CL1 высоко экспрессируется в ЦНС, где регулирует связь между нейронами, глией и микроглией. При этом роль периферических нервов в канцерогенезе различных опухолей очевидна, но малоизучена [37]. Показано, что опухоли нервного происхождения, равно как и злокачественные клетки других эпителиальных раков (рак молочной железы, поджелудочной железы, предстательной железы), имеют высокий уровень рецептора CX3CR1 [16].

Мультиплексный анализ сывороточных хемокинов показал, что одно измерение CX3CL1 имеет хорошую трехлетнюю воспроизводимость и может быть использовано в качестве биомаркера [38]. Данные литературы о взаимосвязи уровня хемокинов, экспрессии рецепторов хемокинов и количестве ЦОК немногочисленны и достаточно фрагментарны. Повышенные концентрации CX3CL1 и наличие ЦОК при раке молочной железы предсказывают неблагоприятный исход [39], при колоректальном раке повышение уровня этого

хемокина и TGF- β указывает на наличие кластеров ЦОК [40]. Цитокины используют хемокиновые рецепторы для активации сигнальных путей, изменяя пролиферацию, ангиогенез и химиорезистентность. При этом данные о соотношении их с числом ЦОК неоднозначны: корреляция уровня хемокина с числом ЦОК может быть как положительной [41], так и отрицательной [42]. Полученные нами данные позволяют предполагать различную чувствительность ЦОК к ХТ, а также участие воспалительных хемокинов в формировании платинорезистентного фенотипа ЦОК.

Заключение

Полученные результаты позволяют предполагать, что уровни сывороточных хемокинов CCL2, CCL3, CCL4 и CXCL-8 значимо не различаются у первичных больных РЯ и доброкачественными опухолями яичников. Однако обнаружены разнонаправленные изменения уровней циркулирующих CCL2, CCL3, CCL4, CXCL-8 и CX3CL1 в процессе лечения в группах с различной химиочувствительностью РЯ, а также различия в длительности бесплатинового интервала при разном содержании данных хемокинов. При платиночувствительном РЯ наблюдаются значимые корреляции количества ЦОК и уровня CX3CL1 в сыворотке крови до лечения.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Lund A.W., Medler T.R., Leachman S.A., Coussens L.M. Lymphatic Vessels, Inflammation, and Immunity in Skin Cancer. *Cancer Discov.* 2016; 6(1): 22–35. doi: 10.1158/2159-8290.CD-15-0023.
- Bonavita E., Galdiero M.R., Jaillon S., Mantovani A. Phagocytes as Corrupted Policemen in Cancer-Related Inflammation. *Adv Cancer Res.* 2015; 128: 141–71. doi: 10.1016/bs.acr.2015.04.013.
- Singha B., Gatla H.R., Vancurova I. Transcriptional regulation of chemokine expression in ovarian cancer. *Biomolecules.* 2015 Mar 17; 5(1): 223–43. doi: 10.3390/biom5010223.
- Wong J.L., Berk E., Edwards R.P., Kalinski P. IL-18-primed helper NK cells collaborate with dendritic cells to promote recruitment of effector CD8+ T cells to the tumor microenvironment. *Cancer Res.* 2013 Aug 1; 73(15): 4653–62. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-4366.
- Farmaki E., Kaza V., Papavassiliou A.G., Chatzistamou I., Kiaris H. Induction of the MCP chemokine cluster cascade in the periphery by cancer cell-derived Ccl3. *Cancer Lett.* 2017 Mar 28; 389: 49–58. doi: 10.1016/j.canlet.2016.12.028.
- Aldinucci D., Colombatti A. The inflammatory chemokine CCL5 and cancer progression. *Mediators Inflamm.* 2014; 2014: 292376. doi: 10.1155/2014/292376.
- Mukaida N., Baba T. Chemokines in tumor development and progression. *Exp Cell Res.* 2012 Jan 15; 318(2): 95–102. doi: 10.1016/j.yexcr.2011.10.012.
- Van den Steen P.E., Proost P., Wuyts A., Van Damme J., Opdenakker G. Neutrophil gelatinase B potentiates interleukin-8 tenfold by aminoterminal processing, whereas it degrades CTAP-III, PF-4, and GRO-alpha and leaves RANTES and MCP-2 intact. *Blood.* 2000 Oct 15; 96(8): 2673–81.
- Schmidt T., Carmeliet P. Blood-vessel formation: Bridges that guide and unite. *Nature.* 2010 Jun 10; 465(7299): 697–9. doi: 10.1038/465697a
- Marchesi F., Locatelli M., Solinas G., Erreni M., Allavena P., Mantovani A. Role of CX3CR1/CX3CL1 axis in primary and secondary involvement of the nervous system by cancer. *J Neuroimmunol.* 2010; 224(1–2): 39–44. doi: 10.1016/j.jneuroim.2010.05.007.
- Sanguinetti M.M.M., Oliveira P.H., Martins-Filho A., Micheli D.C., Tavares-Murta B.M., Murta E.F.C., Nomelini R.S. Serum IL-6 and IL-8 Correlate with Prognostic Factors in Ovarian Cancer. *Immunol Invest.* 2017 Oct; 46(7): 677–688. doi: 10.1080/08820139.2017.1360342.

- Blassl C., Kuhlmann J.D., Webers A., Wimberger P., Fehm T., Neubauer H. Gene expression profiling of single circulating tumor cells in ovarian cancer - Establishment of a multi-marker gene panel. *Mol Oncol.* 2016; 10(7): 1030–42. doi: 10.1016/j.molonc.2016.04.002
- Alix-Panabières C., Brouillet J.P., Fabbro M., Yssel H., Rousset T., Maudelonde T., Choquet-Kastylevsky G., Vendrell J.P. Characterization and enumeration of cells secreting tumor markers in the peripheral blood of breast cancer patients. *J Immunol Methods.* 2005 Apr; 299(1–2): 177–88. doi: 10.1016/j.jim.2005.02.007.
- Hu Y., Fan L., Zheng J., Cui R., Liu W., He Y., Li X., Huang S. Detection of circulating tumor cells in breast cancer patients utilizing multiparameter flow cytometry and assessment of the prognosis of patients in different CTCs levels. *Cytometry.* 2010; 77(3): 213–9. doi: 10.1002/cyto.a.20838. PMID: 20169594.
- Poveda A., Kaye S.B., McCormack R., Wang S., Parekh T., Ricci D., Lebedinsky C.A., Tercero J.C., Zintl P., Monk B.J. Circulating tumor cells predict progression free survival and overall survival in patients with relapsed/recurrent advanced ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2011 Sep; 122(3): 567–72. doi: 10.1016/j.ygyno.2011.05.028.
- Свитич О.А., Филина А.Б., Давыдова Н.В., Ганковская Л.В., Зверев В.В. Роль факторов врожденного иммунитета в процессе опухолеобразования. *Медицинская иммунология.* 2018; 20(2): 151–162. [Svitich O.A., Filina A.B., Davydova N.V., Gankovskaja L.V., Zverev V.V. The role of innate immunity factors in tumorigenesis process. *Medical Immunology.* 2018; 20(2): 151–162. (in Russian)].
- Balkwill F.R. The chemokine system and cancer. *J Pathol.* 2012; 226(2): 148–57. doi: 10.1002/path.3029.
- Singha B., Gatla H.R., Manna S., Chang T.P., Sanacora S., Poloratsky V., Vancurova A., Vancurova I. Proteasome inhibition increases recruitment of I κ B kinase β (IKK β), S536P-p65, and transcription factor EGR1 to interleukin-8 (IL-8) promoter, resulting in increased IL-8 production in ovarian cancer cells. *J Biol Chem.* 2014 Jan 31; 289(5): 2687–700. doi: 10.1074/jbc.M113.502641.
- Wojnarowicz P., Gambaro K., de Ladurantaye M., Quinn M.C., Provencher D., Mes-Masson A.M., Tonin P.N. Overexpressing the CCL2 chemokine in an epithelial ovarian cancer cell line results in latency of in vivo tumorigenicity. *Oncogenesis.* 2012 Sep 10; 1: e27. doi: 10.1038/oncsis.2012.25.
- Moisan F., Francisco E.B., Brozovic A., Duran G.E., Wang Y.C., Chaturvedi S., Seetharam S., Snyder L.A., Doshi P., Sikic B.I. Enhance-

- ment of paclitaxel and carboplatin therapies by CCL2 blockade in ovarian cancers. *Mol Oncol*. 2014 Oct; 8(7): 1231–9. doi: 10.1016/j.molonc.2014.03.016.
21. Kitamura T, Qian B.Z., Soong D., Cassetta L., Noy R., Sugano G., Kato Y., Li J., Pollard J.W. CCL2-induced chemokine cascade promotes breast cancer metastasis by enhancing retention of metastasis-associated macrophages. *J Exp Med*. 2015 Jun 29; 212(7): 1043–59. doi: 10.1084/jem.20141836.
22. Brana I., Calles A., LoRusso P.M., Yee L.K., Puchalski T.A., Seetharam S., Zhong B., de Boer C.J., Tabernero J., Calvo E. Carlumab, an anti-C-C chemokine ligand 2 monoclonal antibody, in combination with four chemotherapy regimens for the treatment of patients with solid tumors: an open-label, multicenter phase 1b study. *Target Oncol*. 2015 Mar; 10(1): 111–23. doi: 10.1007/s11523-014-0320-2.
23. Conti I., Rollins B.J. CCL2 (monocyte chemoattractant protein-1) and cancer. *Semin Cancer Biol*. 2004; 14(3): 149–54. doi: 10.1016/j.semcancer.2003.10.009
24. Roussou M., Tasidou A., Dimopoulos M.A., Kastritis E., Migkou M., Christoulas D., Gavriatopoulou M., Zagouri F., Matsouka C., Anagnostou D., Terpos E. Increased expression of macrophage inflammatory protein-1alpha on trephine biopsies correlates with extensive bone disease, increased angiogenesis and advanced stage in newly diagnosed patients with multiple myeloma. *Leukemia*. 2009 Nov; 23(11): 2177–81. doi: 10.1038/leu.2009.130
25. Milliken D., Scotton C., Raju S., Balkwill F., Wilson J. Analysis of chemokines and chemokine receptor expression in ovarian cancer ascites. *Clin Cancer Res*. 2002 Apr; 8(4): 1108–14.
26. Fridlender Z.G., Kapoor V., Buchlis G., Cheng G., Sun J., Wang L.C., Singhal S., Snyder L.A., Albelda S.M. Monocyte chemoattractant protein-1 blockade inhibits lung cancer tumor growth by altering macrophage phenotype and activating CD8+ cells. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2011; 44(2): 230–7. doi: 10.1165/rcmb.2010-0080OC.
27. Eruslanov E.B., Bhojnagarwala P.S., Quatromoni J.G., Stephen T.L., Ranganathan A., Deshpande C., Akimova T., Vachani A., Litzky L., Hancock W.W., Conejo-Garcia J.R., Feldman M., Albelda S.M., Singhal S. Tumor-associated neutrophils stimulate T cell responses in early-stage human lung cancer. *J Clin Invest*. 2014 Dec; 124(12): 5466–80. doi: 10.1172/JCI77053.
28. Nishikawa G., Kawada K., Nakagawa J., Toda K., Ogawa R., Inamoto S., Mizuno R., Itatani Y., Sakai Y. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells promote colorectal cancer progression via CCR5. *Cell Death Dis*. 2019 Mar 19; 10(4): 264. doi: 10.1038/s41419-019-1508-2.
29. Falcão-Júnior J.O., Teixeira-Carvalho A., Cândido E.B., Lages E.L., Ferreira Freitas G.G., Lamaita R.M., Freire Bonfim L.P., Borges Salera R., Traiman P.P., da Silva-Filho A.L. Assessment of chemokine serum levels in epithelial ovarian cancer patients. *Tumori*. 2013; 99(4): 540–4. doi: 10.1700/1361.15108.
30. Huh S.J., Liang S., Sharma A., Dong C., Robertson G.P. Transiently entrapped circulating tumor cells interact with neutrophils to facilitate lung metastasis development. *Cancer Res*. 2010; 70(14): 6071–82. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-4442.
31. Yin J., Zeng F., Wu N., Kang K., Yang Z., Yang H. Interleukin-8 promotes human ovarian cancer cell migration by epithelial-mesenchymal transition induction in vitro. *Clin Transl Oncol*. 2015; 17(5): 365–70. doi: 10.1007/s12094-014-1240-4.
32. Olsen R.S., Nijm J., Andersson R.E., Dimberg J., Wågsäter D. Circulating inflammatory factors associated with worse long-term prognosis in colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2017; 23(34): 6212–19. doi: 10.3748/wjg.v23.i34.6212
33. Erreni M., Siddiqui I., Marelli G., Grizzi F., Bianchi P., Morone D., Marchesi F., Celesti G., Pesce S., Doni A., Rumio C., Roncalli M.G., Laghi L., Mantovani A., Allavena P. The Fractalkine-Receptor Axis Improves Human Colorectal Cancer Prognosis by Limiting Tumor Metastatic Dissemination. *J Immunol*. 2016 Jan 15; 196(2): 902–14. doi: 10.4049/jimmunol.1501335.
34. Singh S.K., Mishra M.K., Singh R. Hypoxia-inducible factor-1 α induces CX3CR1 expression and promotes the epithelial to mesenchymal transition (EMT) in ovarian cancer cells. *J Ovarian Res*. 2019; 12(1): 42. doi: 10.1186/s13048-019-0517-1.
35. Gürler H., Podhajsky E., Özen D., Leiding C., Bollwein H., Meinecke-Tillmann S. Suitability of the hemi-zona assay for the evaluation of the effect of the length of the equilibration period before cryopreservation. *Theriogenology*. 2018 Jan; 106: 157–163. doi: 10.1016/j.theriogenology.2017.10.021.
36. Gaudin F., Nasreddine S., Donnadieu A.C., Emilie D., Combadière C., Prévot S., Machelon V., Balabanian K. Identification of the chemokine CX3CL1 as a new regulator of malignant cell proliferation in epithelial ovarian cancer. *PLoS One*. 2011; 6(7): e21546. doi: 10.1371/journal.pone.0021546.
37. Zahalka A.H., Frenette P.S. Nerves in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2020; 20: 143–157. doi: 10.1038/s41568-019-0237-2.
38. Agalliu I., Xue X., Cushman M., Cornell E., Hsing A.W., Kaplan R.C., Anastos K., Rajpathak S., Ho G.Y. Detectability and reproducibility of plasma levels of chemokines and soluble receptors. *Results Immunol*. 2013 Aug; 3: 79–84. doi: 10.1016/j.rnim.2013.07.001.
39. Divella R., Daniele A., Savino E., Palma F., Bellizzi A., Giotta F., Simone G., Lioce M., Quaranta M., Paradiso A., Mazzocca A. Circulating levels of transforming growth factor- β (TGF- β) and chemokine (C-X-C motif) ligand-1 (CXCL1) as predictors of distant seeding of circulating tumor cells in patients with metastatic breast cancer. *Anticancer Res*. 2013 Apr; 33(4): 1491–7.
40. Divella R., Daniele A., Abbate I., Bellizzi A., Savino E., Simone G., Giannone G., Giuliani F., Fazio V., Gadaleta-Caldarola G., Gadaleta C.D., Lolli I., Sabbà C., Mazzocca A. The presence of clustered circulating tumor cells (CTCs) and circulating cytokines define an aggressive phenotype in metastatic colorectal cancer. *Cancer Causes Control*. 2014 Nov; 25(11): 1531–41. doi: 10.1007/s10552-014-0457-4.
41. König A., Vilsmaier T., Rack B., Friese K., Janni W., Jeschke U., Andergassen U., Trapp E., Jückstock J., Jäger B., Alunni-Fabbroni M., Friedl T., Weissenbacher T.; SUCCESS STUDY GROUP. Determination of Interleukin-4, -5, -6, -8 and -13 in Serum of Patients with Breast Cancer Before Treatment and its Correlation to Circulating Tumor Cells. *Anticancer Res*. 2016 Jun; 36(6): 3123–30.
42. Lohmann A.E., Dowling R.J.O., Ennis M., Amir E., Elser C., Brezden-Masley C., Vandenberg T., Lee E., Fazaee K., Stambolic V., Goodwin P.J., Chang M.C. Association of Metabolic, Inflammatory, and Tumor Markers With Circulating Tumor Cells in Metastatic Breast Cancer. *JNCI Cancer Spectr*. 2018 Apr; 2(2): pky028. doi: 10.1093/jncics/pky028.

Поступила/Received 10.04.2020

Принята в печать/Accepted 29.09.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Генинг Снежанна Олеговна, аспирант кафедры онкологии и лучевой диагностики, ассистент кафедры физиологии и патофизиологии, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» (г. Ульяновск, Россия). E-mail: sgening@bk.ru. SPIN-код: 2496-2467. Researcher ID (WOS): A-8327-2014. Author ID (Scopus): 55151451500. ORCID: 0000-0001-6970-6659.

Ризванов Альберт Анатольевич, профессор, доктор биологических наук, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» (г. Казань, Россия). SPIN-код: 7031-5996. Researcher ID (WOS): H-4486-2013. Author ID (Scopus): 6507161167. ORCID: 0000-0002-9427-5739.

Абакумова Татьяна Владимировна, кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии и патофизиологии, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» (г. Ульяновск, Россия). SPIN-код: 8564-4253. Researcher ID (WOS): A-8129-2014. Author ID (Scopus): 37103623900. ORCID: 0000-0001-7559-5246.

Долгова Динара Ришатовна, кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии и патофизиологии, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» (г. Ульяновск, Россия). SPIN-код: 7093-3564. Researcher ID (WOS): A-8492-2014. Author ID (Scopus): 55378365200. ORCID: 0000-0001-5475-7031.

Гафурбаева Дина Урхановна, младший научный сотрудник, аспирант кафедры биохимии, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» (г. Казань, Россия). SPIN-код: 1401-4830. Researcher ID (WOS): A-9167-2019. ORCID: 0000-0002-3305-1942.

Рахматуллина Айгуль Римхатовна, младший научный сотрудник, аспирант кафедры биохимии, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» (г. Казань, Россия). SPIN-код: 4903-7872. Researcher ID (WOS): A-9489-2019. ORCID: 0000-0002-0156-5260.

Антонеева Инна Ивановна, доктор медицинских наук, профессор кафедры онкологии и лучевой диагностики, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» (г. Ульяновск, Россия). SPIN-код (РИНЦ): 5305-5108. Researcher ID (WOS): A-8185-2014. Author ID (Scopus): 6504605612. ORCID: 0000-0002-1525-2070.

Генинг Татьяна Петровна, доктор биологических наук, заведующая кафедрой физиологии и патофизиологии, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» (г. Ульяновск, Россия). SPIN-код (РИНЦ): 7285-8939. Researcher ID (WOS): A-8486-2014. Author ID (Scopus): 6507217338. ORCID: 0000-0002-5117-1382.

ВКЛАД АВТОРОВ

Генинг Снежанна Олеговна: разработка концепции научной работы, подбор пациентов для исследования, составление таблиц данных.

Ризванов Альберт Анатольевич: критический пересмотр, анализ научной работы.

Абакумова Татьяна Владимировна: статистическая обработка материала, составление таблиц данных.

Долгова Динара Ришатовна: статистическая обработка материала, составление кривых выживаемости.

Гафурбаева Дина Урхановна: проведение экспериментальной части исследования, оценка количества циркулирующих опухолевых клеток.

Рахматуллина Айгуль Римхатовна: проведение экспериментальной части исследования, выполнение проточной цитометрии и мультиплексного анализа.

Антонеева Инна Ивановна: подбор пациентов для исследования, сбор клинических данных.

Генинг Татьяна Петровна: анализ материалов исследования, написание черновика рукописи, оформление окончательного варианта статьи.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (19-315-50012 мол_нр). Работа выполнена в рамках программы повышения конкурентоспособности Казанского федерального университета и субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Авторы благодарят АНО «Научно-исследовательский центр ДНК» за возможность проведения научного исследования на проточном цитометре Cytoflex S на безвозмездной основе.

ABOUT THE AUTHORS

Snezhana O. Gening, Postgraduate, Department of Oncology and Diagnostic Imaging, Assistant of the Department of Physiology and Pathophysiology, Ulyanovsk State Medical University (Ulyanovsk, Russia). E-mail: sgening@bk.ru. Researcher ID (WOS): A-8327-2014. Author ID (Scopus): 55151451500. ORCID: 0000-0001-6970-6659.

Albert A. Rizvanov, DSc, Professor, Kazan Federal University (Kazan, Russia). Researcher ID (WOS): H-4486-2013. Author ID (Scopus): 6507161167. ORCID: 0000-0002-9427-5739.

Tatiana V. Abakumova, PhD, Assistant Professor of the Department of Physiology and Pathophysiology, Ulyanovsk State Medical University (Ulyanovsk, Russia). Researcher ID (WOS): A-8129-2014. Author ID (Scopus): 37103623900. ORCID: 0000-0001-7559-5246.

Dinara R. Dolgova, PhD, Assistant Professor of the Department of Physiology and Pathophysiology, Ulyanovsk State Medical University (Ulyanovsk, Russia). Researcher ID (WOS): A-8492-2014. Author ID (Scopus): 55378365200. ORCID: 0000-0001-5475-7031.

Dina U. Gafurbaeva, Junior Researcher, Biochemistry Department, Kazan Federal University (Kazan, Russia). Researcher ID (WOS): A-9167-2019. ORCID: 0000-0002-3305-1942.

Aigul R. Rakhmatulina, Junior Researcher, Biochemistry Department, Kazan Federal University (Kazan, Russia). Researcher ID (WOS): A-9489-2019. ORCID: 0000-0002-0156-5260.

Inna I. Antoneeva, MD, DSc, Professor of the Department of Oncology and Diagnostic Imaging, Ulyanovsk State Medical University (Ulyanovsk, Russia). Researcher ID (WOS): A-8185-2014. Author ID (Scopus): 6504605612. ORCID: 0000-0002-1525-2070.

Tatiana P. Gening, DSc, Head of Department of Physiology and Pathophysiology, Ulyanovsk State Medical University (Ulyanovsk, Russia). Researcher ID (WOS): A-8486-2014. Author ID (Scopus): 6507217338. ORCID: 0000-0002-5117-1382.

AUTHOR CONTRIBUTION

Snezhanna O. Gening: study conception and design, selection of patients for research, compilation of data tables.

Albert A. Rizvanov: critical revision for important intellectual content, research analysis.

Tatyana V. Abakumova: data statistical analysis, compilation of data tables.

Dinara R. Dolgova: data statistical analysis, creation of survival curves.

Dina U. Gafurbaeva: participation in experimental research, estimation of the number of circulating tumor cells.

Aigul R. Rakhmatullina: participation in experimental research, flow cytometry and multiplex assays.

Inna I. Antoneeva: selection of patients for the study, data collection.

Tatyana P. Gening: data analysis and interpretation, drafting of the manuscript, final approval of the manuscript.

Funding

This work was supported by a grant from the Russian Foundation for Basic Research (19-315-50012 mol_nr). This work was carried out as part of the program to increase the competitiveness of the Kazan Federal University and the subsidy given to the Kazan Federal University to perform the state task in the field of scientific activity.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgment

The authors thank ANO «DNA Research Center» for the opportunity to conduct scientific research on a Cytotflex S flow cytometer at no cost.