

Оригинальная статья

@ Исаев Г.Б., Ибрагимов М.Р., Салимов Т.Г., 2021

УДК: 616.5-006:615.832.9

DOI: 10.52420/2071-5943-2021-20-3-44-48

## ЗАВИСИМОСТЬ СОСТОЯНИЯ ПРИСТЕНОЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА ОТ АКТИВНОСТИ HELICOBACTER PYLORI-АССОЦИИРОВАННОГО ХРОНИЧЕСКОГО ГАСТРИТА

Г.Б. Исаев, М.Р. Ибрагимов, Т.Г. Салимов

Научный Центр Хирургии имени академика М. Топчибашева, г. Баку, Азербайджанская Республика

**Введение.** Целью работы являлось изучение зависимости состава пристеночной микрофлоры толстого кишечника от активности *Helicobacter pylori*-ассоциированного хронического гастрита и степени обсемененности *Helicobacter pylori* слизистой желудка. **Материалы и методы.** В исследование были включены 50 больных в возрасте от 24 до 72 лет, имевших НР-ассоциированный хронический гастрит в фазе обострения. Из гомогенизата биоптатов слизистой оболочки сигмовидной кишки в 0,1 мл изотонического раствора хлорида натрия готовили серию разведений  $10^1$ - $10^9$  и по 0.1 мл раствора соответствующего разведения засеивали на поверхность питательной среды. Степень обсемененности *Helicobacter pylori* слизистой желудка оценивали в ходе гистологического исследования полуколичественным методом: слабая степень обсемененности — до 20 микробных тел, средняя — 20-50 микробных тел, сильная — свыше 50 микробных тел в поле зрения. **Результаты.** В ходе исследования было продемонстрировано, что показатели средних концентраций бифидобактерий, лактобактерий и типичных штаммов кишечной палочки прогрессивно снижались при переходе к более высокой степени инфицированности НР. Данная тенденция была максимальной в отношении бифидобактерий —  $6,1$ - $1,57$ - $1,09 \times 10^8$  КОЕ/г, с различием максимальной (I степень) и минимальной (III степень) в 5,59 раза. Аналогичная зависимость, но выраженная в гораздо меньшей степени, наблюдалась в отношении *Lactobacterium spp.* и *Escherichia coli*. По мере увеличения выраженности инфильтрации НР слизистой желудка отмечается снижение концентрации вышеуказанных микроорганизмов в пристеночном муцине (коэффициент корреляции  $r = -0,74$ ). **Обсуждение.** Поскольку пристеночная микрофлора является в большей степени стабильной и функционально значимой по сравнению с полостной, полученные данные позволяют рассматривать хеликобактериоз как самостоятельную причину развития кишечного дисбиоза. **Заключение.** Вероятность избыточного роста условно-патогенной фракции пристеночной микрофлоры толстого кишечника имеет прямую зависимость от выраженности обсемененности *Helicobacter pylori* СОЖ, являясь максимальной при III степени контаминации. Содержание бифидобактерий, лактобактерий и типичных штаммов кишечной палочки в пристеночном биотопе толстого кишечника находится в обратной зависимости от степени гистологической активности НР-ассоциированного гастрита.

**Ключевые слова:** *Helicobacter pylori*, хронический гастрит, пристеночная микрофлора.

**Цитирование:** Исаев, Г. Б. Зависимость состояния пристеночной микрофлоры толстого кишечника от активности *Helicobacter pylori*-ассоциированного хронического гастрита / Г. Б. Исаев, М. Р. Ибрагимов, Т. Г. Салимов // Уральский медицинский журнал. – 2021. – Т. 20, № 3. – С. 44-48. – Doi: 10.52420/2071-5943-2021-20-3-44-48.

**Cite as:** Isayev, H. B. Dependence of the state of the large intestine parietal microflora on the activity of *Helicobacter pylori* associated chronic gastritis / H. B. Isayev, M. R. Ibrahimov, T. H. Salimov // Ural medical journal. – 2021. – Vol. 20 (3). – P. 44-48. – Doi: 10.52420/2071-5943-2021-20-3-44-48.

Рукопись поступила: 17.03.2021. Принята в печать: 14.05.2021

**DEPENDENCE OF THE STATE OF THE LARGE INTESTINE PARIETAL MICROFLORA ON THE ACTIVITY OF HELICOBACTER PYLORI ASSOCIATED CHRONIC GASTRITIS**

H.B. Isayev, M.R. Ibrahimov, T.H. Salimov

Academic M. Topchibashev Scientific Center of Surgery, Baku, Azerbaijan Republic

**Introduction.** The aim of the study was to detect the dependence of the composition of the parietal microflora of the colon on the activity of Helicobacter pylori-associated chronic gastritis and the degree of Helicobacter pylori contamination of the gastric mucosa. **Materials and methods.** The study was carried out on 50 patients aged 24 to 72 years, who were diagnosed with HP-associated chronic gastritis in the phase of exacerbation based on the results of FEGDS and histological examination of biopsies of the mucous membrane of the antrum of the stomach in combination with a rapid urease test. A series of dilutions  $10^1$ - $10^9$  was prepared from a homogenized biopsy specimen of the mucous membrane of the sigmoid colon in 0.1 ml of isotonic sodium chloride solution, and 0.1 ml of a solution of the corresponding dilution was inoculated onto the surface of the nutrient medium. The study of mucosal microflora was carried out by means of bacteriological examination of biopsies of the mucous membrane of the sigmoid and cecum. The degree of H. pylori contamination of the gastric mucosa was assessed in the course of histological examination by a semi-quantitative method: low degree of contamination — up to 20 microbial bodies, average — 20-50 microbial bodies, strong — over 50 microbial bodies in the field of view. **Results.** The study demonstrated that the indicators of the average concentrations of bifidobacteria, lactobacilli and typical strains of E. coli progressively decreased with the transition to a higher degree of HP infection. This tendency was maximum in relation to bifidobacteria —  $6.1-1.57-1.09 \times 10^8$  CFU/g, with a difference between the maximum (I degree) and minimum (III degree) 5.59 times. A similar relationship, but much less pronounced, was observed for Lactobacterium spp. and E. coli. As the severity of HP infiltration of the gastric mucosa increases, there is a decrease in the concentration of the above microorganisms in the parietal mucin - the correlation coefficient is  $r = -0.74$ . **Discussion.** Since the mucous microflora is more stable and functionally significant than the cavity microflora, the data obtained allow us to consider Helicobacter pylori as an etiological factor of colonic dysbiosis. **Conclusion.** The probability of excessive growth of conditionally pathogenic fraction of intestinal parietal microflora has a direct dependence on the severity of Helicobacter pylori infestation, being maximum at degree III contamination. Content of bifidobacteria, lactobacilli and typical E. coli strains in the intestinal biotope of the large intestine is inversely related to the degree of histological activity of HP-associated gastritis.

**Keywords:** Helicobacter pylori, chronic gastritis, mucous microflora.

**ВВЕДЕНИЕ**

На сегодняшний день не вызывает сомнений тот факт, что микроорганизм, известный как *Helicobacter pylori*, играет ключевую роль в патогенезе большинства случаев хронического гастрита, язвенной болезни 12-перстной кишки и рака желудка [1-7]. Наряду с этим, появляется все больше данных об изменениях микробиоценоза тонкого и толстого кишечника, развивающихся в связи с персистированием в организме данного микроба [8-14]. Последнее подтверждается также исследованиями с использованием 16S-рибосомальной РНК, причем изменения фекальной микробиоты затрагивают в основном филоотипы *Bacteroides*, *Firmicutes* и *Proteobacteria* [15, 16]. В другом исследовании у пациентов с хроническим эрозивным гастритом этиологии *Helicobacter pylori* было выявлено выраженное снижение содержания бифидобактерий и кишечной палочки в просвете толстого кишечника [17]. Важную роль в патогенезе HP-опосредованных воспалительно-деструктивных и неопластических изменений слизистой желудка может играть дисбаланс желудочного микробиоценоза [18, 19]. *Helicobacter pylori* находится в антагонистических отношениях с облигатной кишечной микробиотой, преимущественно родом *Lactobacillus*, что доказывается в т.ч. высокой эффективностью некоторых штаммов лактобацилл в составе эрадикационной терапии [20-22].

В свою очередь патологическая трансформация кишечного микробиоценоза способна оказывать влияние на патогенез инфекции *Helicobacter pylori* и ее резистентность к антимикробной терапии [23-25]. Изучение зависимости указанных дисбиотических сдвигов от уровня обсемененности *Helicobacter pylori* слизистой желудка затрудняется рядом обстоятельств. Так, длительная терапия ингибиторами протонной помпы, с одной стороны, вносит немаловажный вклад в развитие дисбиоза, преимущественно в тонком кишечнике, а с другой — влияет на степень контаминации хеликобактериями слизистой желудка и размер колонизируемой ими зоны [12, 26, 27]. Кроме того, в большинстве работ, посвященных данному вопросу, не учитывается состояние пристеночной микрофлоры как наиболее постоянного и важного в функциональном отношении компонента кишечного микробиоценоза [17, 24, 28-30]. Таким образом, анализ возможной корреляции между интенсивностью воспалительных изменений при *Helicobacter pylori*-ассоциированном гастрите и выраженностью патологических изменений пристеночной (мукозной) микрофлоры является одной из важных задач в рамках так называемого энтерологического направления изучения хеликобактериоза.

**Цель работы** — исследование зависимости состава пристеночной микрофлоры толстого ки-

щечника от активности *Helicobacter pylori*-ассоциированного хронического гастрита и степени обсемененности *Helicobacter pylori* слизистой желудка.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Исследование охватывало 50 больных, в их числе 27 мужчин и 23 женщины в возрасте от 24 до 72 лет. Обследование всех пациентов проводилось в соответствии с принципом информированного согласия.

Критериями включения в исследование служили:

- 1) продолжительность болей в эпигастрии и диспептического синдрома свыше 6 мес.;
- 2) эндоскопическая картина катарального или эрозивного гастрита;
- 3) положительный результат уреазного экспресс-теста на наличие *Helicobacter pylori*;
- 4) наличие инфильтрации *Helicobacter pylori* слизистой антрального отдела желудка по результатам гистологического исследования.

Критериями исключения были:

- 1) возраст менее 18 лет;
- 2) наличие по результатам ФЭГДС язвенных или опухолевых поражений пищевода, желудка, 12-перстной кишки;
- 3) наличие органической патологии толстого кишечника по данным колоноскопии;
- 4) наличие хронических заболеваний прочих органов и систем в фазе декомпенсации;
- 5) эпизоды антибиотикотерапии в анамнезе в течение последних 6 месяцев.

Изучение мукозной микрофлоры осуществляли посредством бактериологического исследования двух биоптатов слизистой толстого кишечника (сигмовидной и слепой кишки), полученных в ходе тотальной колоноскопии. Из гомогенизата биоптированного кусочка слизистой оболочки толстой кишки в 0,1 мл изотонического раствора хлорида натрия готовили серию разведений  $10^1$ - $10^9$  и по 0,1 мл раствора соответствующего разведения засеивали на поверхность питательной среды.

Количество бактерий в 1 г биологического материала вычисляли по числу выросших колоний микроорганизмов — колониеобразующих единиц (КОЕ) при посеве из максимального разведения, где наблюдался рост не менее 10 колоний. Для расчета применяли формулу:

$$M = N \times 10^{n+1},$$

где M — число микробов в 1 г;  
 N — количество выросших колоний на чашке;  
 n — степень разведения материала.

Степень обсемененности *Helicobacter pylori* слизистой желудка оценивали в ходе гистологического исследования полуколичественным методом: слабая степень обсемененности — до 20 микробных тел, средняя — 20-50 микробных тел, сильная — свыше 50 микробных тел в поле зрения при увеличении  $\times 900$  (масляная иммерсия). Активность воспалительного процесса определяли путем оценки по визуально-аналоговой шкале суммарной выраженности нейтрофильной и лимфоплазмозитарной инфильтрации собственной пластинки слизистой желудка.

Статистическую обработку полученных результатов производили параметрическими методами с использованием программы Statistica

версии 6.0. Оценку различий между сравниваемыми средними значениями независимых выборок осуществляли на основании величины критерия Стьюдента. Достоверными считали значения коэффициента доверительной вероятности  $p < 0,05$ . Выраженность линейной связи между показателями оценивали в ходе корреляционного анализа.

**РЕЗУЛЬТАТЫ**

Среди 50 обследованных больных, имевших в качестве основного диагноза *Helicobacter pylori*-ассоциированный хронический гастрит, толстокишечный дисбиоз был выявлен у 43 человек (86%). По распространенности преобладала II степень инфицированности хеликобактериями — 22 больных (44%); I и III степени были диагностированы у 17 и 11 человек соответственно (34% и 22% случаев). Картина распределения показателей гистологической активности воспаления была близка таковой для инфицированности НР, составляя 24%, 50% и 26% для I, II и III степени активности ХГ. Средние значения концентрации основных представителей облигатной кишечной микрофлоры при различных степенях обсемененности *Helicobacter pylori* представлены в таблице.

Таблица  
 Содержание бифидобактерий, лактобактерий и кишечной палочки в пристеночном биотопе в зависимости от степени контаминации НР СОЖ

Показатель	Средние значения концентрации, КОЕ/г		
	I-степень	II-степень	III-степень
Общее количество кишечных палочек	$312,5 \pm 46,7 \times 10^6$	$241,7 \pm 36,6 \times 10^6$	$187,9 \pm 27,2 \times 10^6$
Бифидобактерии	$6,1 \pm 1,34 \times 10^8$	$1,57 \pm 0,12 \times 10^8$	$1,09 \pm 0,06 \times 10^8$
Лактобактерии	$8,53 \pm 1,37 \times 10^7$	$6,93 \pm 1,14 \times 10^7$	$6,76 \pm 0,92 \times 10^7$

Показатели средних концентраций бифидобактерий, лактобактерий и типичных штаммов кишечной палочки прогрессивно снижались при переходе к более высокой степени инфицированности НР. Данная тенденция была максимальной в отношении бифидобактерий —  $6,1$ - $1,57$ - $1,09 \times 10^8$  КОЕ/г, т. е. максимальное ( $C_{max}$ ) и минимальное ( $C_{min}$ ) значения различались в 5,59 раза. Аналогичная зависимость, но выраженная в гораздо меньшей степени, наблюдалась в отношении *Lactobacterium spp.* и *E. coli*, где соответствующий индекс отношения  $C_{max}/C_{min}$ , условно обозначаемый как k, был равен 1,26 и 1,39 соответственно.

Было проанализировано соответствие конкретных цифровых значений контаминации *Helicobacter pylori* СОЖ, выраженное в микробных единицах/поле зрения и конкретных значений содержания *Bifidobacterium spp.* у отдельных больных. По мере увеличения выраженности инфильтрации НР слизистой желудка отмечали снижение концентрации вышеуказанных микроорганизмов в пристеночном муцине (коэффициент корреляции  $r = -0,74$ ).

При определении частоты избыточного роста условно-патогенной микрофлоры у данных категорий больных было установлено, что последний наблюдался тем чаще, чем более высокая степень обсемененности НР имела место. Так, для I степени этот показатель составил 47,05%, для II — 77,2%, и для III — 100% (8, 17 и 11 человек соответственно).

Изучение зависимости состава мукозной микрофлоры от степени гистологической активности гастрита продемонстрировало схожие результаты: минимальные значения содержания бифидо-, лактобактерий и кишечной палочки —  $6,9 \times 10^7$  КОЕ/г,  $5,7 \times 10^7$  КОЕ/г,  $1,75 \times 10^8$  КОЕ/г, отмечали при III степени активности воспаления.

### ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение пристеночной микрофлоры толстого кишечника у больных *Helicobacter pylori*-ассоциированным хроническим гастритом установило показатели распространенности толстокишечного дисбиоза и распределения степеней его тяжести, близкие к результатам, полученным при исследовании фекальной микрофлоры подобных пациентов в предыдущих исследованиях [17, 24]. При переходе к более высокой степени инфильтрации *Helicobacter pylori* слизистой антрального отдела желудка и гистологической активности воспаления констатируется прогрессирующее снижение содержания бифидобактерий и в меньшей степени лактобактерий и кишечной палочки, а также более частое обнаружение роста условно-патогенной микрофлоры. Поскольку пристеночная микрофлора является в большей степени стабильной и функционально значимой по срав-

нению с полостной, полученные данные позволяют рассматривать хеликобактериоз как самостоятельную причину развития кишечного дисбиоза. В то же время не исключено, что состояние кишечного микробиоценоза может оказывать влияние на активность инфекции *Helicobacter pylori*.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Увеличение степени контаминации *Helicobacter pylori* слизистой антрального отдела желудка сопровождается снижением концентрации бифидобактерий в пристеночном биотопе в 5,59 раза (коэффициент корреляции  $r = -0,74$ ).

Вероятность избыточного роста условно-патогенной фракции пристеночной микрофлоры толстого кишечника имеет прямую зависимость от выраженности обсемененности *Helicobacter pylori* СОЖ, являясь максимальной (100%) при III степени контаминации.

Содержание бифидобактерий, лактобактерий и типичных штаммов кишечной палочки в пристеночном биотопе толстого кишечника находится в обратной зависимости от степени гистологической активности НР-ассоциированного гастрита: минимальные значения  $6,9 \times 10^7$  КОЕ/г,  $5,7 \times 10^7$  КОЕ/г,  $1,75 \times 10^8$  КОЕ/г соответственно при III степени активности воспаления.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pylori and its modulation of gastrointestinal microbiota / C. Schulz, N. Koch, K. Schütte [et al.] // J Dig Dis. – 2015. – Vol. 16 (3). – P. 109-17. – Doi: 10.1111/1751-2980.12233.
2. Барышникова, Н. В. Коррекция нарушений микробиоценоза кишечника у больных хроническим гастродуоденитом, ассоциированным с *helicobacter pylori* // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2008. – № 8. – С. 92-99.
3. Хутиев, С. Ц. Хронический хеликобактерный гастрит и рак желудка / С. Ц. Хутиев, Э. Р. Кундухова, Ц. С. Хутиев // International Journal on Immunorehabilitation. – 2010. – Т. 12, № 2. – С. 161а.
4. Association Between Gut Microbiota and Helicobacter pylori-Related Gastric Lesions in a High-Risk Population of Gastric Cancer / J. Gao, Y. Zhang, M. Gerhard [et al.] // Front Cell Infect Microbiol. – 2018. – Vol. 8. – P. 202.
5. Захарова, Н. В. *Helicobacter pylori*-ассоциированные хронические гастриты (патогенез, возможности дифференцированной терапии): дис.... докт. мед. наук / Н. В. Захарова. – Санкт-Петербург, 2009.
6. Helicobacter pylori in human health and disease: Mechanisms for local gastric and systemic effects / D. Bravo, A. Hoare, C. Soto [et al.] // World J Gastroenterol. – 2018. – Vol. 24 (28). – P. 3071-3089.
7. Reshetnyak, V. I. Helicobacter pylori: Commensal, symbiont or pathogen? / V. I. Reshetnyak, A. I. Burmistrov, I. V. Maev // World J Gastroenterol. – 2021. – Vol. 27 (7). – P. 545-560.
8. He C., Yang Z., Lu N. Imbalance of Gastrointestinal Microbiota in the Pathogenesis of Helicobacter pylori-Associated Diseases / C. He, Z. Yang, N. Lu // Helicobacter. – 2016. – Vol. 21 (5). – P. 337-48. – Doi: 10.1111/hel.12297.
9. Налётов, А. В. Дисбиотические изменения кишечника и эффективность их коррекции у пациентов с хронической гастродуоденальной патологией // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2015. – № 1. – С. 48-53.
10. Fujimori, S. What are the effects of proton pump inhibitors on the small intestine? // World J Gastroenterol. – 2015. – Vol. 21 (22). – P. 6817-9. – Doi: 10.3748/wjg.v21.i22.6817.
11. Helicobacter pylori Infection, the Gastric Microbiome and Gastric Cancer / J. Pereira-Marques, R. M. Ferreira, I. Pinto-Ribeiro, C. Figueiredo // Adv Exp Med Biol. – 2019. – Vol. 1149. – P. 195-210.
12. Castaño-Rodríguez, N. NAFLD, Helicobacter species and the intestinal microbiome / N. Castaño-Rodríguez, H. M. Mitchell, N. O. Kaakoush // Best Pract Res Clin Gastroenterol. – 2017. – Vol. 31 (6). – P. 657-668.
13. Helicobacter pylori Eradication Causes Perturbation of the Human Gut Microbiome in Young Adults / T. W. Yap, H. Gan, Y. Lee [et al.] // PLoS One. – 2016. – Vol. 11 (3). – P. e0151893.
14. Helicobacter pylori and gut microbiota in multiple sclerosis versus Alzheimer's disease: 10 pitfalls of microbiome studies / A. Park, S. Omura, M. Fujita [et al.] // Clin Exp Neuroimmunol. – 2017. – Vol. 8 (3). – P. 215-232.
15. Exploring the impact of Helicobacter pylori on gut microbiome composition / N. R. Dash, G. Khoder, A. M. Nada [et al.] // PLoS One. – 2019. – Vol. 14 (6). – P. e0218274.
16. Association Between Gut Microbiota and Helicobacter pylori-Related Gastric Lesions in a High-Risk Population of Gastric Cancer / J. Gao, Y. Zhang, M. Gerhard [et al.] // Front Cell Infect Microbiol. – 2018. – № 8. – P. 202.
17. Исаев, Г. Б. Состояние микробиоценоза толстого кишечника у пациентов с *Helicobacter pylori* - ассоциированным хроническим эрозивным гастритом / Г. Б. Исаев, М. Р. Ибрагимов, Т. Г. Салимов // Уральский медицинский журнал. – 2016. – № 11. – С. 87-90.
18. Helicobacter pylori Virulence Factors – Mechanisms of Bacterial Pathogenicity in the Gastric Microenvironment / J. Baj, A. Forma, M. Sitarz [et al.] // Cells. – 2021. – Vol. 10 (1). – P. 27.
19. In Vivo Analysis of the Viable Microbiota and Helicobacter pylori Transcriptome in Gastric Infection and Early Stages of Carcinogenesis / K. Thorell, J. Bengtsson-Palme, O. H. Liu [et al.] // Infect Immun. – 2017. – Vol. 85 (10). – P. e00031-1718.
20. Бордин, Д. С. Доказательная база эффективности *Lactobacillus reuteri* при лечении заболеваний, ассоциированных с *Helicobacter pylori* / Д. С. Бордин, И. Н. Войнован, С. В. Колбасников // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2016. – № 8 (132). – С. 82-87.
21. Ji, J. Using Probiotics as Supplementation for Helicobacter pylori Antibiotic Therapy / J. Ji, H. Yang // Int J Mol Sci. – 2020. – Vol. 21 (3). – P. 1136.

22. Boltin, D. Probiotics in Helicobacter pylori-induced peptic ulcer disease // Best Pract Res Clin Gastroenterol. – 2016. – Vol. 30 (1). – P. 99-109.
23. Pichon, M. Impact of the Gastro-Intestinal Bacterial Microbiome on Helicobacter-Associated Diseases / M. Pichon, C. Burucoa // Healthcare (Basel). – 2019. – Vol. 7 (1). – P. 34.
24. Исаев, Г. Б. Изучение зависимости эффективности эрадикационной терапии Helicobacter pylori при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки от исходного состояния микробиоценоза толстого кишечника / Г. Б. Исаев, М. Р. Ибрагимов, Т. Г. Салимов // Вестник Хирургии Казахстана. – 2018. – № 1 (54). – С. 12-15.
25. Влияние состояния микрофлоры ЖКТ на агрессивные способности Helicobacter pylori / Н. В. Воеводина, П. М. Калашникова, А. П. Калашникова, Т. Д. Новосельцева // Молодежный инновационный вестник. – 2016. – Т. 5, № 1. – С. 224-226.
26. Proton pump inhibitors and dysbiosis: Current knowledge and aspects to be clarified / G. Bruno, P. Zaccari, G. Rocco [et al.] // World J Gastroenterol. – 2019. – Vol. 25 (22). – P. 2706-2719.
27. The Gastric and Intestinal Microbiome: Role of Proton Pump Inhibitors / A. Minalyan, L. Gabrielyan, D. Scott [et al.] // Curr Gastroenterol Rep. – 2017. – Vol. 19 (8). – 42.
28. Saxena, A. Helicobacter pylori: Perturbation and restoration of gut microbiome / A. Saxena, A. K. Mukhopadhyay, S. P. Nandi // J Biosci. – 2020. – Vol. 45 (1). – P. 110.
29. Budzyński, J. Brain-gut axis in the pathogenesis of Helicobacter pylori infection / J. Budzyński, M. Kłopocka // World J Gastroenterol. – 2014. – Vol. 20 (18). – 5212-5225.
30. Helicobacter pylori Infection Aggravates Dysbiosis of Gut Microbiome in Children With Gastritis / L. Yang, J. Zhang, J. Xu [et al.] // Front Cell Infect Microbiol. – 2019. – Vol. 9. – P. 375.

**Сведения об авторах**

Исаев Гидаят Билалович, д.м.н., профессор  
 Научный Центр Хирургии им. акад. М. Топчибашева, г.  
 Баку, Азербайджан

Ибрагимов Мурад Рагимович, к.м.н.  
 Научный Центр Хирургии им. акад. М. Топчибашева, г.  
 Баку, Азербайджан  
 Email: doctor.murad84@mail.ru

Салимов Таир Гамидович, к.м.н.  
 Научный Центр Хирургии им. акад. М. Топчибашева, г.  
 Баку, Азербайджан

**Information about the authors**

Isayev H.B., PhD, Professor  
 Academic M. Topchibashev Scientific Center of Surgery,  
 Baku, Azerbaijan

Ibrahimov M.R., MD  
 Academic M. Topchibashev Scientific Center of Surgery,  
 Baku, Azerbaijan  
 Email: doctor.murad84@mail.ru

Salimov T.H., MD  
 Academic M. Topchibashev Scientific Center of Surgery,  
 Baku, Azerbaijan

Оригинальная статья

@ Зеленков Н.П., Волошин Р.Н., Светицкий А.П., Снитко А.В., 2021

УДК: 618.3:616.69-008.8:575.224.23

DOI: 10.52420/2071-5943-2021-20-3-49-53

## КРИОДЕСТРУКЦИЯ РЕЦИДИВНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ КОЖИ РАЗЛИЧНЫХ ЛОКАЛИЗАЦИЙ В УСЛОВИЯХ ПОЛИКЛИНИКИ

Н.П. Зеленков<sup>1</sup>, Р.Н. Волошин<sup>2</sup>, А.П. Светицкий<sup>1</sup>, А.В. Снитко<sup>2</sup><sup>1</sup> ГБУ РО «Онкологический диспансер», г. Новочеркасск, Российская Федерация<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

**Введение.** Рак кожи является одним из наиболее распространенных видов злокачественных новообразований в России. При раке кожи, как правило, применяется лучевая терапия, оперативное вмешательство и комбинированное лечение. К сожалению, вышеуказанные методы не всегда успешны. Причиной неполного эффекта хирургического лечения может быть недостаточный радикализм вмешательства, обусловленный желанием врача нанести наименьшую травму окружающим здоровым тканям для получения хорошего косметического результата. Селективное разрушение опухолевой ткани при криогенном воздействии с минимальным повреждением окружающих здоровых тканей сопровождается гемостатическим эффектом, что особенно важно при лечении как первичных, так и рецидивных распадающихся опухолевых язв. **Цель** — оценить эффективность криодеструкции как метода выбора при амбулаторном лечении рецидивного рака кожи. **Материалы и методы.** Исследование было контролируемым, нерандомизированным. Критерием включения в исследование было установление диагноза рецидивного рака кожи при обращении и последующем лечении в поликлинике ГБУ «Онкологический диспансер» г. Новочеркаска с 2016 по 2020 год. Всего было исследовано 532 пациента. Пациентам планировали проведение криодеструкции опухоли несколькими циклами замораживания-оттаивания продолжительностью 2-5 минут. **Результаты.** Результаты исследования свидетельствуют о высокой эффективности криодеструкции. Полное выздоровление при лечении рецидивного рака кожи было отмечено у 446 (83,4%) больных. Повторная криодеструкция была проведена 86 (16,6%) пациентам, у которых после криодеструкции отмечался продолженный рост и повторные рецидивы в сроки от 1 до 18 месяцев. В дальнейшем у 38 из 86 пациентов (7,2%) продолжения роста и новых рецидивов отмечено не было. **Обсуждение.** Исходя из литературных данных и наших результатов лечения, видно, что криодеструкция является наиболее приемлемым и простым методом лечения данной категории больных. **Заключение.** При наличии ограниченных рецидивов рака кожи различных локализаций криогенное воздействие эффективно (в 90,6% исход — выздоровление) у пациентов различного пола и возраста вне зависимости от локализации и распространенности опухолевого процесса и является методом выбора лечения в амбулаторных условиях.

**Ключевые слова:** криодеструкция; рак кожи; амбулаторное лечение; онкология; рецидив.

**Цитирование:** Криодеструкция рецидивных злокачественных опухолей кожи различных локализаций в условиях поликлиники / Н. П. Зеленков, Р. Н. Волошин, А. П. Светицкий, А. В. Снитко // Уральский медицинский журнал. – 2021. – Т. 2, № 3. – С. 49-53. – Doi: 10.52420/2071-5943-2021-20-3-49-53.

**Cite as:** Cryodestruction of recurrent malignant skin tumors of different localizations in polyclinics / N. P. Zelenkov, R. N. Voloshin, A. P. Svetitsky, A. V. Snitko // Ural medical journal. – 2021. – Vol. 20 (3). – P. 49-53. – Doi: 10.52420/2071-5943-2021-20-3-49-53.

Рукопись поступила: 17.02.2021. Принята в печать: 31.03.2021

## CRYODESTRUCTION OF RECURRENT MALIGNANT SKIN TUMORS OF DIFFERENT LOCALIZATIONS IN POLYCLINICS

N.P. Zelenkov<sup>1</sup>, R.N. Voloshin<sup>2</sup>, A.P. Svetitsky<sup>1</sup>, A.V. Snitko<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Oncological Dispensary, Novochoerkassk, Russian Federation

<sup>2</sup> Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

**Introduction.** Skin cancer is one of the most common types of malignant neoplasms in Russia. Radiation therapy, surgical intervention, and combined treatment are usually used for skin cancer. Unfortunately, the above methods are not always successful. The reason for the incomplete effect of surgical treatment may be insufficient radicalism of the intervention due to the doctor's desire to cause the least trauma to the surrounding healthy tissues in order to obtain a good cosmetic result. Selective destruction of tumor tissue in cryogenic exposure with minimal damage to surrounding healthy tissues is accompanied by a hemostatic effect, which is especially important in the treatment of both primary and recurrent decaying tumor ulcers. **Aim** — to evaluate the effectiveness of cryodestruction as the method of choice in the outpatient treatment of recurrent skin cancer. **Materials and methods.** The study was controlled, non-randomized. The criterion for inclusion in the study was the establishment of the diagnosis of recurrent skin cancer at the application and subsequent treatment in the outpatient clinic of the State Budgetary Institution "Oncologic Dispensary" in Novochoerkassk from 2016 to 2020. A total of 532 patients were studied. Patients were planned to undergo tumor cryodestruction with several freeze-thaw cycles, lasting 2-5 minutes. **Results.** The results of the study indicate high efficiency of cryodestruction. Complete recovery in the treatment of recurrent skin cancer was observed in 446 (83.4%) patients. Repeated cryodestruction was performed in 86 (16.6%) patients, who experienced continued growth and recurrence after cryodestruction within 1 to 18 months. Subsequently, 38 of 86 patients (7.2%) did not experience continuation of growth and new recurrences. **Discussion.** Based on the literature data and our treatment results it was determined that cryodestruction is the most acceptable and simple method of treatment for this category of patients. **Conclusion.** In the presence of limited recurrences of skin cancer of various localizations, cryogenic exposure is effective (in 90.6% of the outcome — recovery) in patients of different sex and age, regardless of the location and prevalence of the tumor process and is the method of choice of treatment in an outpatient setting.

**Keywords:** cryosurgery; skin cancer; outpatient treatment; oncology; recurrence.

### ВВЕДЕНИЕ

Рак кожи является одним из наиболее распространенных видов злокачественных новообразований в России [1, 2].

При раке кожи, как правило, применяется лучевая терапия, оперативное вмешательство и комбинированное лечение [3-12]. К сожалению, вышеуказанные методы не всегда успешны. Причиной неполного эффекта хирургического лечения может быть недостаточный радикализм вмешательства, обусловленный желанием врача нанести наименьшую травму окружающим здоровым тканям для получения хорошего косметического результата [13-15]. Неудовлетворительный эффект лучевого лечения бывает связан с расположением опухолей на неровных поверхностях (ушная раковина, крыло носа, веки, угол глаза и др.), когда сложно достигнуть равномерного распределения лучевой дозы, что приводит к появлению рецидивов [3, 9, 16-19].

Наряду с вышеуказанными методами лечения рака кожи в настоящее время применяется криодеструкция, основанная на использовании разрушающего действия низких температур на биологические ткани [20]. Преимуществами данного метода являются простота выполнения, возможность многократного воздействия даже при наличии сопутствующих заболеваний (сахарный диабет, ишемическая болезнь сердца, эпилепсия и др.) у больных пожилого и старческого возраста [16, 21, 22]. Криогенное воздействие можно широко осуществлять в амбулаторных условиях [12, 15, 23-26].

Селективное разрушение опухолевой ткани при криогенном воздействии с минимальным повреждением окружающих здоровых тканей сопровождается гемостатическим эффектом, что особенно важно при лечении как первичных, так и рецидивных распадающихся опухолевых язв [12, 27-30].

Размеры опухоли определяют выбор способа криогенного лечения. При необходимости разрушения небольших очагов (до 2,0 см в наибольшем протяжении) и глубиной инвазии более 0,6-0,8 см криогенное воздействие целесообразно осуществлять аппликационным (контактным) способом, т.е. путем непосредственной фиксации наконечника криоинструмента к опухоли. При раковых опухолях кожи, имеющих значительное распространение по поверхности с неглубокой инвазией, применяется способ криораспыления (орошения) [13, 22, 27].

В качестве хладагента в настоящее время применяется жидкий азот при температуре -196°C.

**Цель исследования** — оценить эффективность криодеструкции как метода выбора при амбулаторном лечении рецидивного рака кожи.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование было контролируемым, нерандомизированным. Период наблюдения — с 2016 по 2020 гг. Распределение проводилось соответственно полу, возрасту, локализации рака кожи, размеру рецидивной опухоли.

В исследование были включены пациенты с установленным рецидивным раком кожи после различных методов лечения: хирургического, лучевого, комбинированного (хирургического в сочетании с лучевым), комплексного (химиотерапии в сочетании с лучевым), лазерного, криогенного, фотодинамического, при обращении отказавшиеся от других методов лечения в пользу криодеструкции. Криодеструкцию этим пациентам впоследствии проводили в поликлинике ГБУ «Онкологический диспансер» в г. Новочеркасск в 2016-2020 гг.

Описание медицинского вмешательства: пациентам планировалось проведение криодеструкции опухоли несколькими циклами замораживания-оттаивания продолжительностью 2-5 минут.

Основной исход исследования — полное выздоровление пациентов. Дополнительные исходы: продолженный рост и рецидив после лечения. Методы регистрации исходов: результаты лечения фиксировались на повторных приемах в поликлинике ГБУ «Онкологический диспансер» в г. Новочеркасск за весь период наблюдения по 2020 год включительно.

Всего за период с 2016 по 2020 было исследовано 532 человека. Мужчин было 387 (72,7 %), женщин — 145 (27,3 %). Возраст пациентов составил от 37 до 92 лет; среднее значение возраста составило  $M \pm \sigma = 69 \pm 11,8$  года, мода (Mo) 66 лет, медиана (Me) 68 лет.

Основная масса больных была в двух возрастных группах: от 61 до 70 и от 71 до 80 лет — 243 (45,7%) и 204 (38,2 %) соответственно (табл. 1). Большинство пациентов, как правило, проживало в районах Ростовской области, а также в Краснодарском крае, поэтому проведение криодеструкции во многих случаях как выбор метода лечения в одно посещение в амбулаторном порядке было наиболее удобным и не требовало госпитализации.

Таблица 1  
Распределение больных в зависимости от пола и возраста

Возраст, лет	Количество больных			
	абс.	%	Мужчины	Женщины
менее 40	4	0,8	4	-
41-50	12	2,4	8	4
51-60	34	6,4	27	7
61-70	243	45,6	170	73
71-80	204	38,2	151	53
81-90	28	5,4	21	7
более 90	7	1,4	6	1
Всего	532	100	387	145

У наибольшего количества больных рецидивы были расположены на различных участках кожи головы. Также имело место значительное число пациентов с локализацией опухолевых очагов в области кожи спины (табл. 2). Диагноз во всех случаях был верифицирован: базальноклеточный рак — у 397 пациентов (72,8%), плоскоклеточный — у 135 (27,2 %).

Таблица 2  
Структура локализации рецидивного опухолевого процесса

Локализация опухоли	Количество больных	
	абс.	%
Волосистая часть головы	82	11,6
Ушная раковина	21	4,2
Орбитальная область	15	3
Нос	128	22,2
Носогубная складка	2	0,4
Щека	108	20,4
Подбородочная область	4	0,8
Шея	5	1
Подкрыльцовая ямка	1	0,2
Передняя грудная стенка	25	5
Передняя брюшная стенка	18	3,6
Спина	89	16,7
Плечо	12	2,4
Предплечье	4	0,8
Кисть	2	0,4
Бедро	7	1,4
Голень	5	1
Стопа	4	0,8
Всего	532	100

Значительное большинство пациентов — 488 (91,4 %) — имело рецидивный опухолевый процесс в наибольшем протяжении до 3,0 см (табл. 3).

Таблица 3  
Структура размеров рецидивного опухолевого процесса

Размер опухоли	Количество больных	
	абс.	%
менее 1,0 см	156	29,4
от 1,0 до 2,0 см	218	41
от 2,0 до 3,0 см	114	21
от 3,0 до 4,0 см	33	6,6
от 4,0 до 5,0 см	11	2,2
Всего	532	100

При распространенных процессах более 5,0 см, а также с наличием поражения регионарных лимфатических узлов больные направлялись на стационарное лечение.

Рецидивы рака кожи чаще всего возникали после ранее проведенного хирургического, лучевого, комбинированного (хирургического в сочетании с лучевым), комплексного (химиотерапии в сочетании с лучевым), лазерного, криогенного, фотодинамического лечения (табл. 4). При проведении ретроспективного анализа было установлено, что продолженный рост опухоли и рецидивы возникали в срок до 18 месяцев вне зависимости от метода предшествующего лечения. При этом в случае, если методом предшествующего лечения была криодеструкция, рецидивы и продолженный рост возникали в срок до 17 месяцев.

Таблица 4  
Рецидивы, возникшие в зависимости  
от метода ранее проведенного лечения

Метод ранее проведенного лечения	Количество больных	
	абс.	%
Лучевая терапия	132	24,8
Хирургическое лечение	184	34,2
Комбинированное лечение	103	19,4
Комплексное лечение	81	15,2
Лазерная деструкция	20	4
Криогенное лечение	7	1,4
Фотодинамическая терапия	5	1
Всего	532	100

## РЕЗУЛЬТАТЫ

С целью контроля над процессом криогенно-го воздействия раствором бриллиантовой зелени или йода намечались центры использования криоинструмента и границы зон предполагаемого некроза. Перед замораживанием проводили местную анестезию 0,5-1%-ым раствором лидокаина.

Криодеструкцию осуществляли в виде нескольких циклов замораживания — оттаивания продолжительностью от 2 до 5 минут. Результаты криодеструкции представлены в таблице 5.

Таблица 5  
Результаты криодеструкции

Результат		Кол-во пациентов	
		абс.	%
Полное выздоровление		446	83,4
Продолженный рост или рецидив в течение 4-18 мес. после лечения*	Выздоровление после повторной криодеструкции	38	7,2
	Криодеструкция неэффективна, направлены на хирургическое лечение	48	9,4
Всего пациентов		532	100

Примечание: \* — в среднем рецидив возникал через 12 месяцев.

К концу первого месяца после лечения происходило отторжение некротического струпа с последующим замещением рубцовой тканью.

Нежелательные явления. Все больные перенесли криогенное воздействие удовлетворительно. Во время проведения криодеструкции и после нее у большинства пациентов осложнений не наблюдалось. У 36 (6,8%) пациентов возникшее кровотечение в процессе криогенного воздействия было купировано фиксацией кровоточащего участка тугой асептической повязкой.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Каприн, А. Д. Состояние онкологической помощи населению России в 2019 г. / А. Д. Каприн, В. В. Старинский, А. О. Шахзодова. – М., 2020. – С. 5.
- Сергеев, Ю. Ю. Возможности ранней диагностики и профилактики злокачественных образований кожи / Ю. Ю. Сергеев, О. Ю. Олисова, В. Ю. Сергеев // Фарматека. – 2016. – № 52. – С. 17-26.
- Агеева, Н. А. Критерии эффективности режимов фракционирования близкофокусной рентгенотерапии базально-клеточного рака кожи лица / Н. А. Агеева, Ф. Р. Джабаров, В. Г. Толмачев // Наука сегодня: Глобальные вызовы и механизмы развития : Материалы международной научно-практической конференции. Научный центр «Диспут». – М., 2017. – С. 82-86.
- Беляев, А. М. Лечение инфицированных форм базальноклеточного рака кожи лица / А. М. Беляев, Г. Г. Прохоров, А. С. Мадагов // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2016. – Т.11, № 1. – С.84-87.

При проведении криодеструкции для предупреждения вторичной инфекции во всех случаях назначалось местное противовоспалительное лечение: раствор мирамистина, 3% перекиси водорода, хлоргексидина. После криогенного лечения распространенных рецидивов (более 4 см в диаметре) назначали нестероидные противовоспалительные средства и антибактериальную терапию.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Криодеструкция является методом выбора для лечения пациентов с рецидивами рака кожи различных локализаций, так как выполняется амбулаторно за одно посещение [15, 16, 27]. Проведение лучевого лечения для данной категории больных во многих случаях неэффективно, потому что рецидивы возникают на фоне радиорезистентных постлучевых рубцов [9, 13, 19]. После хирургического лечения рецидивных злокачественных опухолей кожи, особенно в области лица, могут формироваться обширные дефекты функционального и косметического характера, влияющие на качество жизни пациентов [13, 27, 29, 30]. Фотодинамическая терапия и лазерная деструкция при рецидивах рака кожи не позволяет добиться достаточной инвазии для обеспечения полной абластики опухолевого очага [9, 12, 14, 21]. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о высокой эффективности криодеструкции. Полное выздоровление было отмечено у 446 (83,4%) больных. У 86 (16,6%) пациентов с продолженным ростом и повторными рецидивами в сроки от 1 до 18 месяцев повторно применили криодеструкцию. В результате у 38 (7,2% от общего числа) пациентов продолжения роста и новых рецидивов отмечено не было. На стационарное хирургическое лечение были направлены 48 (9,4%) пациентов, у которых криогенное лечение оказалось неэффективным.

Исходя из литературных данных и наших результатов лечения, видно, что криодеструкция является наиболее приемлемым и простым методом лечения данной категории больных.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При наличии ограниченных рецидивов рака кожи различных локализаций, криогенное воздействие эффективно (в 90,6% исход — выздоровление) у пациентов различного пола и возраста. И вне зависимости от локализации и распространенности опухолевого процесса криодеструкция является методом выбора лечения в амбулаторных условиях.

### Источник финансирования

Исследование осуществлено на личные средства авторского коллектива.

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

5. Обзор современных методов лечения плоскоклеточного рака кожи / А. М. Беляев, Г. Г. Прохоров, З. А. Раджабова [и др.] // Вопросы онкологии. – 2019. – Т.65, № 1. – С.7-15.
6. Плоскоклеточный рак кожи: возможности хирургического лечения / Ш. Х. Ганцев, О. Н. Липатов, К. Ш. Ганцев [и др.] // Эффективная фармакотерапия. – 2017. – № 36. – С.50-53.
7. Зейналова, С. М. Лечение местнораспространенного первичного и рецидивного плоскоклеточного рака кожи головы и шеи / С. М. Зейналова, Н. М. Амиралиев // Медицинские новости. – 2016. – № 5. – С.62-64.
8. Клинические проявления базальноклеточного рака кожи и результаты лечения пациентов / М. А. Кабанова, В. Н. Волгин, Н. М. Попова [и др.] // Научно-практический журнал «Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики». – 2018. – № 2. – С. 28-36.
9. Кива, Е. В. Тактические подходы к лечению больных с рецидивами базальноклеточного и плоскоклеточного рака кожи головы : дис. ... кандидата медицинских наук / Е. В. Кива. – М, 2019 – 168 с.
10. Современная стратегия лечения начальных и местнораспространенных форм базальноклеточных карцином кожи головы и шеи / А. П. Поляков, М. В. Ратушный, О. В. Маторин [и др.] // Злокачественные опухоли. – 2017. – Т.7, № 3. – С. 91-92.
11. Стратегия лечения местнораспространенного и рецидивного базальноклеточного рака кожи головы и шеи / А. Н. Самуленко, А. В. Мордовский, И. В. Ребрикова [и др.] //: Материалы IV Петербургского международного онкологического форума «Белые ночи 2018» : Тезисы. – СПб. : Автономная некоммерческая научно-медицинская организация «Вопросы онкологии». – 2018. – С. 46.
12. Treatments of primary basal cell carcinoma of the skin: A systematic review and network meta-analysis / A. M. Drucker, G. P. Adam, V. Rofeberg [et.al.] // Ann. Intern. Med. – 2018. – Vol. 169 (7). – P. 456-466.
13. Пустынский, И. Н. Современная стратегия лечения больных базальноклеточным и плоскоклеточным раком кожи головы и шеи : дис. ... доктора медицинских наук. – М., 2014. – 284 с.
14. Burton K. A., Ashack K. A., Khachemoune A. Cutaneous squamous cell carcinoma: A review of high risk and metastatic disease / K. A. Burton, K. A. Ashack, A. Khachemoune // Am. J. Clin. Dermatol. – 2016. – Vol. 17, № 5. – P. 491-508.
15. Sinclair, R. Cryosurgery in dermatology: Treatment of malignant and premalignant skin disease // Медицинская криология. – Нижний Новгород, 2001. – Вып. 2. – С. 149-170.
16. Практическая криомедицина / В. И. Грищенко, Б. П. Сандомирский, Ю. Ю. Колонтай [и др.]; под ред. В.И. Грищенко, Б.П. Сандомирского. – Киев, «Здоровья», 1987. – 303 с.
17. Пустынский, И. Н. Криохирургическое и криолучевое лечение больных раком кожи свода черепа / И. Н. Пустынский, С. И. Ткачев, Т. Д. Таболинская // Опухоли головы и шеи. – 2016. – Т. 5, № 3. – С.24 – 30.
18. Лечение больных с местнораспространенными рецидивами рака кожи лица крио-лучевым методом / И. Н. Пустынский, Т. Д. Таболинская, С. И. Ткачев [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2017. – № 16 (6). – С. 67-71.
19. Secondary basal cell carcinoma of scalp after radiotherapy: A case report / F. Chen, S. F. Yang, C. H. Chen [et. al.] // Medicine (Baltimore). – 2018. – Vol. 97 (36). – P. 117-127.
20. Кандель, Э. И. Криохирургия. – М, 1974 – 303 с.
21. Пустынский, И. Н. Отдаленные результаты криогенного лечения больных с рецидивами рака кожи головы // Петербургский Международный Онкологический форум, 20-23 июня 2020 г. – Санкт-Петербург, 2020.
22. Светицкий, А. П. Пневмогипертермия и криогенное воздействие при лечении рецидивных злокачественных опухолей кожи, губы, органов полости рта и верхней челюсти : автореф. дис. ... кандидата медицинских наук. – Ростов-на-Дону, 2003. – 20 с.
23. Киприянова, Н. С. Результаты применения криогенного метода в лечении различных предопухолевых и злокачественных новообразований кожи и слизистой оболочки / Н. С. Киприянова, К. С. Лоскутова // Якутский медицинский журнал. – 2015. – № 2. – С. 38-41.
24. Коваль, М. В. Выбор метода лечения при базальноклеточном раке кожи носа. T1N0M0 / М. В. Коваль, А. И. Абламейко, Е. С. Гутяр // Проблемы и перспективы развития современной медицины : Сборник научных статей 10 Республиканской научно-практической конференции с международным участием. – 2018. – С. 550-552.
25. Оптимизация международной помощи больным с базальноклеточным раком кожи в условиях специализированного консультативно-диагностического отделения / С. В. Козлов, А. А. Морятов, Д. А. Кассиров [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2018. – №. 4. – С. 219.
26. Светицкий, П. В. Криогенное лечение рака кожи в амбулаторных условиях / П. В. Светицкий, А. П. Светицкий, Н. П. Зеленков // Международный журнал прикладных и функциональных исследований. – 2018. – № 6. – С.90-92.
27. Пачес, А. И. Опухоли головы и шеи. – М., 2000. – 480 с.
28. Прохоров, Г. Г. Микрофлора инфильтративно-язвенной формы базальноклеточного рака кожи на фоне криогенного лечения / Г. Г. Прохоров, Т. Ю. Галунова, З. А. Раджабова // Вопросы онкологии. – 2017. – Т. 63, № 3. – С. 486-489.
29. SLNB in cutaneous SCC: A review of the current state of literature and the direction for the future / O. Ahadiat, S. Higgins, A. Sutton [et. al.] // J. Surg. Oncol. – 2017. – Vol. 116, № 3. – P. 344-350.
30. Kim, D. P. Basal cell carcinoma review / D. P. Kim, K. J. Kus, E.Ruiz // Hematol. Oncol. Clin. North. Am. – 2019. – Vol. 33 (1). – P. 13-24.

**Сведения об авторах**

Зеленков Николай Петрович  
ГБУ РО «Онкологический диспансер»,  
г. Новочеркасск, Россия  
Email: novoch.onko@yandex.ru

Волошин Руслан Николаевич, д.м.н., профессор  
ФГБОУ ВО РГМУ Минздрава России,  
г. Ростов-на-Дону, Россия  
ORCID: 0000-0001-8774-7120  
Email: ruvoloshin@yandex.ru

Светицкий Андрей Павлович, к.м.н.  
ГБУ РО «Онкологический диспансер»,  
г. Новочеркасск, Россия  
ORCID: 0000-0002-8954-3743  
Email: novoch.onko@yandex.ru

Снитко Алексей Валерьевич  
ФГБОУ ВО РГМУ Минздрава России,  
г. Ростов-на-Дону, Россия  
ORCID: 0000-0002-4121-166X  
Email: 4496374@gmail.com

**Information about the authors**

Nikolay P. Zelenkov  
Oncological Dispensary,  
Novocherkassk, Russia  
Email: novoch.onko@yandex.ru

Ruslan N. Voloshin, PhD, Professor  
Rostov State Medical University,  
Rostov-on-Don, Russia  
ORCID: 0000-0001-8774-7120  
Email: ruvoloshin@yandex.ru

Andrey P. Svetitsky, MD  
Oncological Dispensary,  
Novocherkassk, Russia  
ORCID: 0000-0002-8954-3743  
Email: novoch.onko@yandex.ru

Alexey V. Snitko  
Rostov State Medical University,  
Rostov-on-Don, Russia  
ORCID: 0000-0002-4121-166X  
Email: 4496374@gmail.com

Оригинальная статья

@ Енгибарян М.А., Костоев И.С., Максимов А.Ю., Проходная В.А., Кононенко В.И., Максюков С.Ю., 2021

УДК: 616.316.5-006

DOI: 10.52420/2071-5943-2021-20-3-54-61

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ВЛИЯНИЯ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ БОЛЬНЫХ РАКОМ ОКОЛОУШНОЙ СЛЮННОЙ ЖЕЛЕЗЫ

М.А. Енгибарян<sup>1</sup>, И.С. Костоев<sup>1</sup>, А.Ю. Максимов<sup>1</sup>,  
В.А. Проходная<sup>2</sup>, В.И. Кононенко<sup>2</sup>, С.Ю. Максюков<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

**Введение.** Комплекс транскрипционных белков семейства NF-κB (Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) заслуженно привлекает внимание как фактор, способный определить течение злокачественного заболевания. Перспективность его изучения в совокупности с экспрессией провоспалительного гена IL6 у больных раком околоушной железы (ОСЖ) связана с разработкой модуляции лечения злокачественного заболевания и оценкой риска течения болезни. **Цель исследования** — определить влияние экспрессионной активности провоспалительного гена интерлейкина-6 и транскрипционного гена NFκB1 на выживаемость больных раком ОСЖ. **Материалы и методы.** Проведено когортное ретроспективное исследование на двух группах. В эпидемиологическую группу больных были включены 140 человек из онкологического регистра Ростовской области. Клиническая часть работы проведена на 25 больных раком ОСЖ обоего пола в возрасте от 50 до 80 лет. Срок наблюдения за больными после радикального хирургического вмешательства — 18 лет. В клинической группе исходно методом ПЦР реального времени в опухолевой и условно здоровой ткани оценивали экспрессионную активность генов NFκB1 и IL6. Выживаемость пациентов анализировали с помощью метода Каплана-Мейера. **Результаты.** По результатам анализа выживаемости в эпидемиологической группе вероятность того, что больной раком ОСЖ переживет первый год после постановки диагноза, составляла 95,7%, три года — 82,4%, пять лет — 70,9% и 10 лет — 31,2%. При сравнительном изучении уровней экспрессии генов в опухолевых образцах ткани по сравнению с условно здоровой тканью установлено повышение ( $p < 0,001$ ) относительного показателя как для гена IL6 (в 5,7 раза), так и для гена NFκB1 (в 7,9 раза). **Обсуждение.** Анализ наших данных показал возможность использования комплексной оценки экспрессии генов NFκB1 и IL6 в клетках опухолевых образцов ткани рака ОСЖ, полученных при операции, для прогноза выживаемости больных в отдаленный период после хирургического лечения. **Заключение.** Доказанным прогностическим фактором, определяющим течение заболевания у больных раком ОСЖ, выступал экспрессионный профиль гена NFκB1 в опухолевой ткани, что необходимо учитывать при формировании прогноза заболевания. Самостоятельного влияния на выживаемость больных раком ОСЖ выраженность экспрессии гена IL6 в опухолевых клетках не имела, но способствовала усилению функциональной активации гена транскрипции NFκB1.

**Ключевые слова:** рак околоушной слюнной железы, экспрессия генов, выживаемость больных, прогноз.

**Цитирование:** Генетические факторы влияния на выживаемость больных раком околоушной слюнной железы / М. А. Енгибарян, И. С. Костоев, А. Ю. Максимов [и др.] // Уральский медицинский журнал. – 2021. – Т. 20, № 3. – С. 54-61. – Doi: 10.52420/2071-5943-2021-20-3-54-61.

**Cite as:** Genetic factors influence the survival rate of parotid salivary gland cancer patients / M. A. Engibaryan, I. S. Kostoev, A. Ju. Maksimov [et al.] // Ural medical journal. – 2021. – Vol. 20 (3). – P. 54-61. – Doi: 10.52420/2071-5943-2021-20-3-54-61.

Рукопись поступила: 13.04.2021. Принята в печать: 24.06.2021

## GENETIC FACTORS INFLUENCE THE SURVIVAL RATE OF PAROTID SALIVARY GLAND CANCER PATIENTS

M.A. Engibaryan<sup>1</sup>, I.S. Kostoev<sup>1</sup>, A.Ju. Maksimov<sup>1</sup>,  
V.A. Prohodnaja<sup>2</sup>, V.I. Kononenko<sup>2</sup>, S.Ju. Maksjukov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

<sup>2</sup> Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

**Introduction.** The complex of transcriptional proteins of NF- $\kappa$ B (Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) family deservedly attracts attention as a factor capable of determining the course of malignant disease. Its promising study in combination with the expression of proinflammatory gene IL6 in patients with parotid cancer (PSG) is associated with the development of modulation of malignant disease treatment and risk assessment of the disease course. **Aims** — to determine the effect of the expression activity of the proinflammatory interleukin-6 gene and the NFKB1 transcriptional gene on the survival rate of patients with parotid cancer. **Materials and methods.** A cohort retrospective study was conducted in two groups. The epidemiological group of patients included 140 people from the cancer registry of Rostov region. The clinical part of the work was carried out on 25 patients with PSG cancer of both sexes aged 50 to 80 years. Follow-up period of the patients after radical surgery was 18 years. Expression activity of NFKB1 and IL6 genes was estimated by real-time PCR in tumor and conditionally healthy tissue. Patient survival rate was analyzed using Kaplan-Meier method. **Results.** According to the results of the survival analysis in the epidemiological group, the probability that an PSG cancer patient would survive the first year after diagnosis was 95.7%, three years — 82.4%, five years — 70.9% and 10 years — 31.2%. A comparative study of gene expression levels in tumor tissue samples compared to conditionally healthy tissue revealed an increase ( $p < 0.001$ ) in the relative index for both the IL6 gene (5.7 times) and the NFKB1 gene (7.9 times). **Discussion.** Analysis of our data showed the possibility of using the complex evaluation of NFKB1 and IL6 gene expression in the cells of tumor samples of PSG cancer tissue obtained during surgery to predict the long-term survival of patients after surgical treatment. **Conclusions.** The expression profile of NFKB1 gene in tumor tissue was a proven prognostic factor determining the course of the disease in patients with PSG cancer, which should be taken into account when forming the prognosis of the disease. The expression of IL6 gene expression in tumor cells had no independent effect on the survival rate of PSG cancer patients, but contributed to the functional activation of NFKB1 transcription gene.

**Keywords:** salivary parotid cancer, gene expression, patient survival, prognosis.

### ВВЕДЕНИЕ

В последнее время молекулярно-генетические методы все шире входят в практику современной онкологии [1]. Заболеваемость злокачественными опухолями слюнных желез относительно низка по сравнению с другими видами рака головы и шеи. На их долю приходится более 0,5% всех злокачественных новообразований и примерно 3-6,5% всех случаев опухолей головы и шеи [2]. В основном рак поражает околоушную или поднижнечелюстную слюнные железы [3]. Поскольку эти опухоли медленно растут, то обнаруживаются на поздних стадиях, когда радикальное хирургическое лечение провести затруднительно, полностью удалить опухоль не представляется возможным. К химиотерапии и лучевой терапии рак больших слюнных желез резистентен [4]. В связи с совокупностью данных обстоятельств существуют затруднения в лечении рака околоушной слюнной железы (ОСЖ) поздних стадий, когда складывается жизнеугрожающая ситуация. Таким образом, необходимо разработать новые терапевтические стратегии молекулярной таргетной терапии для лечения злокачественных опухолей слюнных желез.

Комплекс транскрипционных белков семейства NF- $\kappa$ B (Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) определяют ответ опухолевых клеток на экзогенные и эндогенные сигналы, в том числе физические, стрессорные

воздействия, инфекцию, воспаление [5]. Белки на N-конце имеют высококонсервативный участок RHD (Rel homology domain), обуславливающий комплексирование в гомо- или гетеродимеры, транспорт в клеточное ядро. В норме последовательность NF $\kappa$ B-связывающего сайта узнается на ДНК и происходит взаимодействие фактора с белками-ингибиторами семейства I $\kappa$ B. Напротив, C-концевой домен лабильный и отвечает за активацию транскрипции либо ее ингибирование [6]. Активация NF $\kappa$ B-сигнального пути происходит в присутствии провоспалительных цитокинов, бактериальных липополисахаридов, вирусов, ведет к усилению клеточной пролиферации за счет усиленной передачи информации с ДНК на РНК, подавлению апоптоза [7]. Являясь центральным звеном транскрипции для генов иммунного ответа, NF $\kappa$ B заслуженно привлекает внимание как фактор, способный определить течение злокачественного заболевания [8]. Перспективность его изучения в совокупности с экспрессией провоспалительного гена IL6 позволит понять, насколько модуляция функционирования данного сигнального пути является необходимой при лечении рака больших слюнных желез [9].

**Цель исследования** — определить влияние экспрессионной активности провоспалительного гена интерлейкина-6 и транскрипционного гена NFKB1 на выживаемость больных раком ОСЖ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При организации исследования были сформированы две группы: эпидемиологическая (n=140) и клиническая (n=25), в которые включили пациентов с раком ОСЖ I-IV стадий заболевания. В эпидемиологическую группу были включены все больные из онкологического регистра Ростовской области с диагнозом рака ОСЖ с 2002 по 2020 гг. Клиническая часть работы проведена на 25 больных раком ОСЖ обоего пола в возрасте от 50 до 80 лет, у которых проводили генетическое исследование на опухолевой ткани, полученной при операции, а затем проспективно в течение пяти лет с 2015 по 2020 гг. анализировали выживаемость пациентов. Проспективное наблюдение за пациентами в клинической группе позволило оценить влияние генетических факторов на выживаемость больных раком ОСЖ.

Критерии включения пациентов в эпидемиологическую группу: рак околоушной слюнной железы (МКБ С07), проживание пациента в Ростовской области, наличие информации в онкологическом регистре региона о дате постановки диагноза, дате операции и сведения о наличии или отсутствии летального исхода больного с указанием причины смерти при ее наступлении. Критерии исключения из эпидемиологической группы: переезд пациента в другую область и потеря наблюдения за больным.

Критерии включения в клиническую группу: рак околоушной слюнной железы (МКБ С07), отсутствие до момента исследования специализированного лечения онкологического заболевания. Критерии исключения из клинической группы: пациенты в стадии обострения воспалительных заболеваний полости рта; с тяжелой общесоматической патологией (ВИЧ, СПИД, гепатит, декомпенсация соматических заболеваний).

Эпидемиологическое исследование проведено в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону). Клиническая часть работы проведена совместно в ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России и ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России.

Срок наблюдения за больными раком ОСЖ после радикального хирургического вмешательства в эпидемиологической группе — 18 лет, в клинической группе — 5 лет.

Основной исход исследования: изучали выживаемость больных раком ОСЖ и число, а также сроки наступления летальных исходов после выполнения радикального хирургического вмешательства. Оценивали влияние генетических факторов на риск развития летальных исходов.

Возраст пациентов эпидемиологической группы колебался от 29 до 89 лет, в среднем составлял  $62,6 \pm 1,1$  года (медиана — 62,5 года, межквартильный диапазон — 53-76 лет). Женщин было 65 (46,4%), мужчин 75 (53,6%). В городах Ростовской области проживали 108 (77,1%) пациентов с раком ОСЖ, в сельских районах — 32 (22,9%) пациента.

Средний возраст пациентов клинической группы составлял  $71,3 \pm 1,7$  года (медиана — 70 лет, межквартильный диапазон — 56-77 лет), размах от 50 до 80 лет. По полу наблюдали 9 женщин (36%) и 16 мужчин (64%). По гистологическому типу у 17 (68%) пациентов был выявлен мукоэпи-

дермоидный рак, у 8 (32%) больных — ацинозно-клеточный рак.

Клиническое обследование всех пациентов проходило по стандартному протоколу: визуальный контроль, пальпация, УЗИ слюнных желез и лимфатических узлов шеи, тонкоигольная аспирационная биопсия из опухоли, цитологическое исследование биоптатов, компьютерное и магнитно-резонансное томографическое исследование головы и шеи, компьютерная томография грудной полости.

Операционные биоптаты слюнной железы для генетического анализа замораживали в жидком азоте ( $-80^{\circ}\text{C}$ ) и в течение часа доставляли в лабораторию. Из полученных образцов ткани готовили препараты толщиной 8 мкм.

Фрагменты ткани помещали в пробирку с 350 мкл буфера набора для лизиса клеток и связывания общей РНК RNeasy Mini Kit (Qiagen, Германия), включая 1% бета-меркаптоэтанол. Экстракцию, выделение и элюирование общей РНК проводили согласно инструкции фирмы-производителя. Концентрацию полученной РНК измеряли с помощью набора Quant-iT<sup>TM</sup> RNA Assay Kit (Invitrogen, США) на флуориметре Qubit<sup>TM</sup> (Invitrogen, США).

Для получения комплементарной ДНК (кДНК) 1 мкг РНК подвергали обратной транскрипции с помощью метода RT-PCR и набора реагентов с обратной транскриптазой Omniscript Reverse Transcriptase Kit (Qiagen, Германия) и использованием  $10 \mu\text{M}$  р(dN)8 рандомных гексамерных праймеров (TIB MOLBIOL, Германия). Перед транскрипцией РНК денатурировали в течение 5 мин. при  $65^{\circ}\text{C}$  с последующим охлаждением на льду. Обратная транскриптаза Omniscript была инактивирована при нагреве реакционной смеси в течение 5 мин. при  $93^{\circ}\text{C}$ . кДНК хранилась при  $-20^{\circ}\text{C}$  до RT-qPCR-анализа. кДНК разводили 1:5 перед использованием в качестве ПЦР-матрицы.

При проведении ПЦР в реальном времени для анализа экспрессии генов IL6 и NFkB1 использовали систему ABI Prism (Applied Biosystems, США), включающую готовые праймеры и TaqMan зонды. Зонды TaqMan были мечеными флуоресцентным красителем FAM 5'-(6-карбоксихлорофлуоресцеин) с гасителем красителя TAMRA (6-карбокситетраметилпродамин) на тимидиновой основе вблизи 3'-конца. Реакционная смесь содержала: ПЦР-буфер [200 мМ Трис-HCl (pH 8,4), 500 мМ KCl], 4,5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 1 мМ dNTP, 0,5 U платиновая Taq ДНК-полимераза (Invitrogen, Германия), 0,2 мкМ каждого праймера, 120 нМ специфического зонда TaqMan и 1 мкМ 6-карбоксихлорофлуоресцеина (Molecular Probes, Нидерланды). В качестве матрицы для ПЦР использовали 2 мкл предварительно разбавленной кДНК в конечном объеме 25 мкл. Условия цикла были следующими: первичная денатурация  $94^{\circ}\text{C}$  — 3 мин; 45 циклов:  $94^{\circ}\text{C}$  — 20 с, отжиг и элонгация праймера при температуре, специфичной для каждого гена, в течение 30 с. При определении экспрессии каждого гена ПЦР-РВ проводили трехкратно. В качестве референсного использовали ген АСТВ.

Для проведения ПЦР реального времени использовали термоциклер Bio-Rad CFX96 (Bio-Rad, США), специализированное программное обеспечение Bio-Rad CFX Manager (ver. 2.1).

Относительная экспрессия генетических локусов вычислялась следующим образом:

– рассчитывали медиану Ct по трем повторам для целевого локуса и референсного АСТВ;

– рассчитывали величину  $\Delta Ct$  по стандартному методу [10];  
 – определяли относительную экспрессию генетического локуса (RE) по формуле  $2^{-\Delta Ct}$ .

Вывод об изменении экспрессии гена делали, сравнивая показатели относительной экспрессии генетических локусов в опухолевой и условно здоровой ткани. Для этого вычисляли медиану REоп опухолевых образцов и медиану REк контрольных (условно здоровая ткань) для каждого генетического локуса и рассчитывали соотношение относительной экспрессии генов в опухолевой ткани по отношению к нормальной ткани матки:  $K=RE_{оп}/RE_{к}$ .

Исследование было одобрено Локальным независимым этическим комитетом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (протокол № 6 от 12 ноября 2019 г.). Все пациенты клинической группы подписывали добровольное информированное согласие на проведение исследования.

Принципы расчета размера выборки: размер выборки рассчитывали для статистической мощности 80%, нормальность распределения вариант в выборке оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка.

Статистический анализ результатов исследования проводился с помощью программы STATISTICA 12.0 (StatSoft Inc., США). Результаты представлены в виде медианы, межквартильного диапазона между 25 и 75 перцентилями [Q25-Q75], средневыворочного значения и ошибки средней. В работе использованы методы описательной статистики — оценка центральной тенденции, размаха, вариабельности. По методу Каплана-Мейера оценивали функцию выживаемости. Метод позволил оценить долю пациентов, у которых не произошло летального исхода и вероятность отсутствия события (остаться в живых) к определенному моменту времени от начала наблюдения (операции). Такую вероятность называют выживаемостью, функцию зависимости выживаемости от времени — функцией выживаемости. Графическим представлением метода Каплана-Мейера являются кривые выживаемости: по оси ординат откладывают вероятность наступления событий, а по оси абсцисс — время. Кривая выживаемости представляет собой серию горизонтальных, снижающихся ступеней, величина снижения которых отражает кумулятивную долю пациентов, у которых к конкретному моменту времени летальный исход не произошел. В работе с помощью логистического метода регрессии Кокса проведен ана-

лиз влияния экспрессии генов (предикторы) на выживаемость больных в течение пяти лет после операции. Стандартизированный коэффициент регрессии  $\beta$  (Beta) отражал кратность соотношения между вероятностью наступления летального исхода и изменением величины предиктора на условную единицу. Размер условной единицы зависит от дисперсии или разброса анализируемых показателей. Между стандартизированным коэффициентом регрессии  $\beta$  и вероятностью события пропорциональная связь. Статистическая значимость отличия стандартизированного коэффициента регрессии  $\beta$  от нуля (отсутствие влияния) оценивалась по статистике Вальда (Wald) и доверительной вероятности  $p$ . Чем выше значение статистики Вальда, тем ниже значение  $p$ . Отношение шансов или  $\exp(B)$  позволяла определить, насколько изменяется риск события при наличии предиктора. Если  $\exp(B) > 1$ , то предиктор повышал вероятность наступления события (летального исхода), а если  $\exp(B) < 1$ , то предиктор имел протективное влияние на выживаемость.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Среди пациентов эпидемиологической группы отмечалось следующее распределение по стадиям болезни: 1 стадия — 13 (9,3%), 2 стадия — 50 (35,7%), 3 стадия — 44 (31,4%) и 4 стадия — 33 (23,6%) больных. Методом таблиц жизни 15-летний период наблюдения был разделен на 12 интервалов по 1,4 года. На этапе от 2,8 до 4,2 лет процентная доля выживших пациентов составила 79,3%, а от 4,2 до 5,6 лет — от 74,3%. За 10 лет доля выживших соответствовала 52,1%.

В клинической группе 1 стадия рака ОСЖ имела место у 3 (12%), 2 стадия — у 12 (48%), 3 стадия — у 6 (24%) и 4 стадия — у 4 (16%) больных.

Метод Каплана-Мейера позволил оценить динамику кумулятивной выживаемости пациентов при продолжительном наблюдении. Вероятность того, что больной раком ОСЖ переживет первый год после постановки диагноза, составляла 95,7%, три года — 82,4%, пять лет — 70,9% и 10 лет — 31,2% (рис. 1).

Общая выживаемость больных раком ОСЖ зависела от стадии заболевания ( $\chi^2=48,2$ ;  $p<0,0001$ ) (рис. 2). При 1 стадии рака ОСЖ медиана составила 10,4 года (межквартильный диапазон 9,8-13,2), при 2 стадии — 8,8 года (межквартильный диапазон 7,9-11,7), 3 стадии — 5,6 года (межквартильный диапазон 3,8-7,9 года) и при 4 стадии — 2,4 года (1,7-6,6 года).

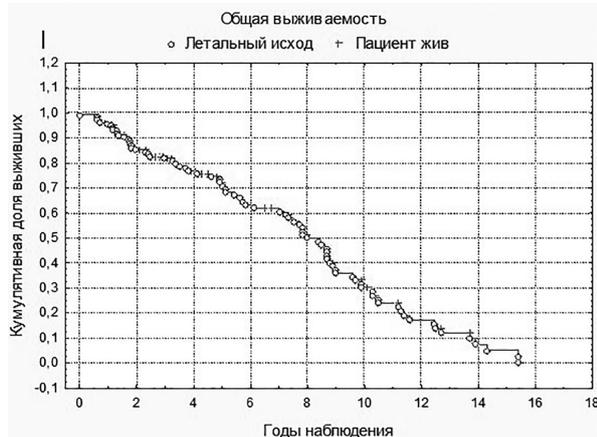


Рис. 1. Динамика общей выживаемости больных раком ОСЖ по методу Каплана-Мейера

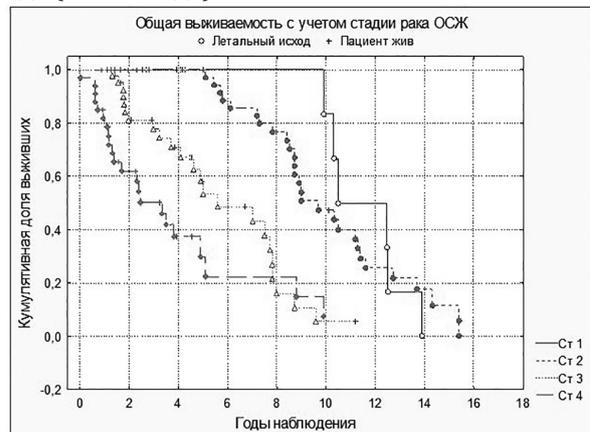


Рис. 2. Общая выживаемость пациентов с раком ОСЖ с учетом стадии заболевания по методу Каплана-Мейера

В эпидемиологической группе чаще наблюдались такие признаки, как пожилой возраст (старше 65 лет) (45%), курение (37,1%), сиалоаденит в анамнезе (24,3%), токсичные вещества в профессиональной деятельности (сотрудники салонов красоты, парикмахеры, работники, контактирующие с никелевой и силиконовой пылью) (20%).

Активация экспрессии генов позволяет опухолевым клеткам контролировать собственную структуру и функцию, являясь основой дифференцировки, адаптации и морфогенеза [25]. С помощью генетических исследований в клинической группе были выявлены особенности экспрессии генов IL6 и NFKB1 в опухолевых клетках рака ОСЖ. Величины относительной экспрессии генов в опухолевых клетках ОСЖ по сравнению с условно здоровой тканью у пациентов клинической группы представлены в таблице 1.

Таблица 1

Относительная экспрессия генов (К) в опухолевых клетках ОСЖ по сравнению с условно здоровой тканью

Ген	Медиана К (REоп/REк)	Межквартильный диапазон [25-75]	p
IL6	5,7	4,1-6,8	0,00001
NFKB1	7,9	6,2-8,9	0,00001

При сравнительном анализе уровней экспрессии генов в опухолевых образцах ткани, по сравнению с условно здоровой тканью, установлено повышение ( $p < 0,05$ ) относительного показателя как для гена IL6 (в 5,7 раза), так и для гена NFKB1 (в 7,9 раза).

Далее было изучено влияние экспрессионной активности изучаемых генов в опухолевой ткани, а также их сочетанного изменения на общую выживаемость пациентов с раком ОСЖ. Это позволило провести оценку прогностической значимости изменения функциональной активности каждого гена, так и их совокупности. Для выполнения этой задачи проводили регрессионный анализ Кокса.

Наиболее выраженное прямое влияние на летальность больных раком ОСЖ оказывало усиление экспрессионной активности гена NFKB1, а также сочетанное повышение экспрессии одновременно генов NFKB1 и IL6 (табл. 2).

Таблица 2

Параметры регрессионного анализа Кокса влияния экспрессии генов NFKB1 и IL6 на общую выживаемость больных раком ОСЖ, скорректированные по стадии заболевания и полу пациентов

Показатели	Влияние относительной экспрессии гена	Влияние экспрессии гена с учетом коварианты стадии рака	Влияние экспрессии гена с учетом коварианты стадии и пола
<b>NFKB1</b>			
$\beta$ -стандартизированный показатель, $M \pm m$	2,79 $\pm$ 0,46	2,12 $\pm$ 0,51	2,41 $\pm$ 0,46
exp(B)	7,2	6,5	6,3
Wald (p)	21,1 (p<0,001)	18,13 (p<0,001)	15,74 (p<0,001)
$\chi^2$ (p)	18,13 (p<0,001)	15,04 (p<0,001)	13,25 (p<0,001)
<b>IL6</b>			

$\beta$ -стандартизированный показатель, $M \pm m$	1,61 $\pm$ 0,38	0,75 $\pm$ 0,52	0,61 $\pm$ 0,55
exp(B)	3,4	2,1	1,8
Wald (p)	4,0 (p=0,002)	2,4 (p=0,09)	1,9 (p=0,18)
$\chi^2$ (p)	5,2 (p=0,03)	1,9 (p=0,11)	1,5 (p=0,16)
<b>NFKB1* IL6</b>			
$\beta$ -стандартизированный показатель, $M \pm m$	3,47 $\pm$ 0,48	3,07 $\pm$ 0,60	2,79 $\pm$ 0,55
exp(B)	9,5	7,6	6,9
Wald (p)	23,0 (p<0,001)	20,3 (p<0,001)	18,9 (p<0,001)
$\chi^2$ (p)	19,6 (p<0,001)	14,5 (p<0,001)	14,1 (p<0,001)

Поправка на коварианты (стадия рака и пол больных) не изменяли статистическую значимость влияния экспрессионной активности гена NFKB1 на выживаемость пациентов. Напротив, в отношении влияния экспрессии гена IL6 в опухолевых клетках коварианты снижали предикторную значимость фактора. Так, при учете стадии заболевания, стадии и пола, значения  $\beta$ -стандартизированного показателя (0,75 $\pm$ 0,52 и 0,61 $\pm$ 0,55 соответственно) и exp(B) (2,1 и 1,8 соответственно) при изучении влияния экспрессии гена IL6 на выживаемость снижались с потерей статистической значимости ( $p > 0,05$ ) и снижением критерия Вальда по сравнению с оценкой влияния фактора без учета ковариант ( $\beta$ -стандартизированный показатель=1,61 $\pm$ 0,38, exp(B)=3,4). То есть стадия заболевания и экспрессия гена IL6 совместно (зависимо) изменяли общую выживаемость, параметры регрессионного анализа характеризовали ослабление влияния гена IL6 на течение болезни при учете стадии заболевания.

Средняя величина  $\beta$ -стандартизированного показателя с ошибкой средней (2,79 $\pm$ 0,46) имела высокое значение (табл. 2), что отражало высокую силу прямого влияния экспрессии гена NFKB1 на выживаемость больных раком ОСЖ. Повышение экспрессии гена NFKB1 усиливало риск летального исхода больного с раком ОСЖ в 7,2 раза (exp(B)=7,2). При учете стадии заболевания риск летального исхода при наличии данного признака несколько снижался, но все равно был высоким (exp(B)=6,5). Следовательно, усиление экспрессии гена NFKB1 в опухолевой ткани по сравнению с условно здоровой тканью относилось к независимым предикторам, способствующим прогрессированию заболевания с летальным исходом. Статистическую значимость влияния гена оценивали по статистике Вальда. Доверительная вероятность p (Wald) составила 0,000004, то есть изучаемая независимая переменная вносила значимый вклад в предсказательную способность регрессионной модели.

Влияние экспрессии гена IL6 было слабее по сравнению с геном NFKB1, хотя одновременное повышение экспрессии двух генов приводило к усилению предикторной значимости генетических факторов для прогноза выживаемости больных после операции. Так, при анализе влияния одновременно двух факторов — экспрессии генов NFKB1 и IL6 — на общую выживаемость больных отмечалось повышение значения  $\beta$ -стандартизи-