

ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМНОГО ИММУНИТЕТА У ПАЦИЕНТОВ С РЕЦИДИВИРУЮЩИМ РАКОМ ЯИЧНИКОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПЛАТИНОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

**Владимирова Л. Ю. ORCID ID 0000-0002-4822-5044,
Сагакянц А. Б. ORCID ID 0000-0003-0874-5261,
Алькина А. К. ORCID ID 0000-0002-2724-4000,
Дженкова Е. А. ORCID ID 0000-0002-3561-098X,
Златник Е. Ю. ORCID ID 0000-0002-1410-122X,
Бондаренко Е. С. ORCID ID 0000-0002-8522-1026**

*Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр онкологии»
Минздрава РФ, Ростов-на-Дону, Российская Федерация, e-mail: alkinann@yandex.ru*

Особый интерес представляет проблема формирующейся резистентности к препаратам платины при рецидивирующем раке яичников. В связи с этим необходим поиск новых терапевтических стратегий, а также прогностических биомаркеров ответа на лечение. Цель исследования: оценить особенности популяционного состава миелоидных супрессорных клеток в крови у пациенток с рецидивом рака яичников при лечении VEGF-ингибиторами в зависимости от чувствительности к препаратам платины. Материалы и методы. Сформированы две группы больных: 1 – основная (n=30), включающая пациенток с рецидивом рака яичников; 2 – контрольная группа (n=30), состоящая из пациенток III клинической группы. Для проведения исследования у всех пациенток забирались образцы периферической крови. Оценку результатов осуществляли на проточном цитометре FacsCanto (Becton Dickinson, США). Результаты. До начала проведения лечения в спектре миелоидных супрессорных клеток по сравнению с контролем значимым оказалось увеличение на 100% и 33% содержание клеток с фенотипом соответственно CD11b+CD33+ и CD33+, на фоне чего происходило снижение на 33% количества клеток фенотипа CD14+CD15+. После окончания 6 курсов химиотерапии у пациенток основной группы наблюдали снижение по сравнению с контролем CD33+ на 33%, что также оказалось ниже на 50% уровня этих клеток до начала лечения. После 3 месяцев поддерживающей антиVEGF-терапии у пациенток основной группы оказалось значимо увеличенным содержание ряда миелоидных клеток: CD14+CD15+ - на 233% по сравнению с контрольными значениями, на 400% и 233% - по сравнению с уровнями показателя до начала лечения и через 6 курсов. Выводы. С учетом функциональной роли миелоидных супрессорных клеток возможно предположить, что динамика изменения их содержания может иметь значение как в прогнозировании эффекта от проводимого лечения, так и выступать как прогностический биомаркер.

Ключевые слова: рак яичников, бевацизумаб, ангиогенез, платиночувствительный/ платинорезистентный рецидив, миелоидные супрессорные клетки (МСК).

FEATURES OF SYSTEMIC IMMUNITY IN PATIENTS WITH RECURRENT OVARIAN CANCER DEPENDING ON PLATINUM SENSITIVITY

**Vladimirova L. Yu. ORCID ID 0000-0002-4822-5044,
Sagakyants A. B. ORCID ID 0000-0003-0874-5261,
Al'kina A. K. ORCID ID 0000-0002-2724-4000,
Dzhenkova E. A. ORCID ID 0000-0002-3561-098X,
Zlatnik E. Yu. ORCID ID 0000-0002-1410-122X,
Bondarenko E. S. ORCID ID 0000-0002-8522-1026**

Federal State Budgetary Institution "National Research Center of Oncology" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Rostov-on-Don, Russian Federation, e-mail: alkinann@yandex.ru

Of particular interest is the problem of developing resistance to platinum preparations in recurrent ovarian cancer. Therefore, it is necessary to search for new therapeutic strategies, as well as prognostic biomarkers of response to treatment. The aim of the study was to evaluate the features of the population composition of myeloid suppressor cells in the blood of patients with recurrent ovarian cancer treated with VEGF inhibitors, depending on sensitivity to platinum preparations. Materials and methods. Two groups of patients were formed: 1 – the main

group (n=30), including patients with recurrent ovarian cancer; 2 – control group (n=30), consisting of patients of the III clinical group. Peripheral blood samples were collected from all patients for the study. The results were evaluated using a FACSCanto flow cytometer (Becton Dickinson, USA). Results. Before the start of treatment, the myeloid suppressor cell spectrum showed a significant increase of 100% and 33% in the number of cells with the CD11b+CD33+ and CD33+ phenotypes, respectively, compared with the control, followed by a 33% decrease in the number of CD14+CD15+ phenotype cells. After completing 6 courses of chemotherapy in the patients of the main group, there was a 33% decrease in CD33+ compared to the control group, which also turned out to be 50% lower than the level of these cells before the start of treatment. After 3 months of supportive anti-VEGF therapy, the patients of the main group showed a significantly increased content of a number of myeloid cells: CD14+CD15+ - by 233% compared with the control values, by 400% and 233% compared with the levels of the indicator before the start of treatment and after 6 courses. Conclusions. Taking into account the functional role of myeloid suppressor cells, it is possible to assume that the dynamics of changes in their content may be important both in predicting the effect of treatment and acting as a prognostic biomarker.

Keywords: ovarian cancer, bevacizumab, angiogenesis, platinum-sensitive/platinum-resistant recurrence, myeloid suppressor cells (MSCs).

Введение

Рак яичников (РЯ) в настоящее время в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями у женщин в мире занимает лидирующую позицию [1; 2]. Несмотря на совершенствование терапевтических подходов, у большей части пациенток регистрируется рецидив РЯ и прогрессирование после лечения в первой линии. «Золотым стандартом» лечения является хирургическое вмешательство + химиотерапия (паклитаксел+карбоплатин). При прогрессии заболевания возможна смена химиотерапевтического агента и добавление антиангиогенного препарата (бевацизумаб), также при наличии мутаций в генах BRCA1,2 – назначение PARP-ингибиторов [3; 4].

Бевацизумаб в настоящее время одобрен для терапии как платиночувствительного, так и платинорезистентного рецидива рака яичников. Доказательная база его применения основана на результатах исследований III фазы OCEANS и AURELIA, продемонстрировавших клиническую значимость добавления антиангиогенной терапии к стандартной химиотерапии у пациенток с рецидивирующим заболеванием [5]. Важно отметить, что антиангиогенная терапия занимает важную роль в терапии РЯ, ряд авторов доказал повышенную активность образования сосудистой сети в опухоли на всех стадиях развития злокачественного процесса, что обусловлено увеличением экспрессии VEGF-A и его растворимого рецептора [6].

Особый интерес представляет собой рецидив РЯ, так как прошедшие курсы химиотерапии могут индуцировать лекарственную устойчивость, а именно к препаратам платины. В связи с этим необходим поиск новых терапевтических подходов, а также прогностических биомаркеров ответа на лечение.

Для понимания процессов развития и прогрессирования РЯ необходимо изучить не только опухолевое микроокружение, но и активность и характеристики параметров системного иммунитета. Цитокины, хемокины и клеточные взаимодействия создают необходимые условия для развития местной иммуносупрессии, позволяя тем самым опухолевым клеткам выживать, расти и сохранять способность к метастазированию.

На сегодняшний день изучено влияние опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов (TILs), которые обеспечивают локальный иммунитет внутри и вокруг опухоли [7]. Большое количество TIL доказывает, что опухоли при РЯ обладают иммуногенным потенциалом. Ряд авторов показал корреляцию избыточной инфильтрации опухоли CD8⁺ Т-клетками с улучшением общей выживаемости (ОВ) [8]. Активность TIL снижается под воздействием различных иммуносупрессивных механизмов и клеток, включая CD163⁺ миелоидные клетки, миелоидные супрессорные клетки (МСК) и регуляторные Т-клетки (Treg). Эти клетки являются основными составляющими опухоли при РЯ, и их идентификация на локальном уровне была связана с прогрессированием заболевания [9]. Кроме того, увеличение количества МСК в периферической крови и наличие асцита у больных коррелировало уменьшением ОВ [10].

В настоящее время принято считать, что МСК представляют гетерогенную популяцию незрелых миелоидных клеток, способных модифицировать (снижать) функциональную активность клеток как врожденного, так и адаптивного иммунитета, обуславливая опухолевую прогрессию. В зависимости от фенотипических характеристик выделяют несколько видов МСК: моноцитарные (МО-МСК), гранулоцитарные или полиморфноядерные клетки (ГР-МСК), а также субпопуляция промиелоцитарных МСК (ПМ-МСК) [11]. Особенности изменения их содержания в организме онкологических больных, в частности больных РЯ, практически не изучены.

В связи с вышеизложенными данными авторы предполагают, что изучение популяционного состава МСК у пациенток с рецидивом РЯ даст новые возможности для поиска предикторов ответа на лечение и понимания механизмов лекарственной устойчивости.

Цель исследования

Оценить особенности популяционного состава миелоидных супрессорных клеток в крови у пациенток с рецидивом рака яичников при лечении VEGF-ингибиторами в зависимости от чувствительности к препаратам платины.

Материал и методы исследования

Исследование проводилось на базе отделения противоопухолевой лекарственной терапии ФГБУ «НМИЦ онкологии» МЗ РФ с 2023 по 2026 год. Было набрано две группы больных: 1 – основная (n=30), включающая пациенток с рецидивом РЯ; 2 – контрольная группа (n=30), состоящая из пациенток III клинической группы. Средний возраст участников составил $57,53 \pm 2$ года. Гистологический подтип опухоли – серозная аденокарцинома.

На данном этапе работы осуществляли выделение пациенток основной группы с платиночувствительным вариантом опухоли (n=15) – основная группа 1, а также основную группу 2 (n=15), в которую включали пациенток с платинорезистентным вариантом РЯ.

Для проведения исследования у всех пациенток забирались образцы периферической крови: в основной группе - до начала лечения, после окончания 6 курсов химиотерапии, после 3 месяцев поддерживающей антиVEGF-терапии; в контрольной – больные, прошедшие хирургическое лечение, курсы адъювантной химиотерапии на этапе диспансерного наблюдения через полгода после завершения лечения. Забор образцов крови осуществлялся в вакуумные пробирки, содержащие в качестве антикоагулянта К₃ЭДТА.

Для оценки экспрессии рецепторов использовали иммунофенотипическое окрашивание с использованием следующей панели флуоресцентно-меченых антител согласно протоколу производителя (BD, Biolegende, USA): CD14 FITC/CD11b PE/CD33 PerCP-Cy5.5/ HLADR PE-Cy7/CD15 APC/CD45 APC-Cy7.

Оценку результатов осуществляли на проточном цитометре FacsCanto (Becton Dickinson, США), инструментальные настройки которого проводили с помощью стандартизированных флуоресцентных частиц (BD FACSDiva™ CS&T Research Beads, BD Biosciences, США). Для каждого образца анализировали не менее 100 000 живых клеток. Использовали DotPlot-анализ цитограмм с коммерческим программным обеспечением BD FacsDiva software (BD Biosciences).

Первичный сбор и анализ результатов проводили в MS Excel, а дальнейшую статистическую обработку данных осуществляли с помощью пакета Statistica 13.3 (StatSoft Inc., США). Для оценки достоверности отличий между группами использовали непараметрический критерий Манна – Уитни. При $p < 0,05$ результаты считали статистически значимыми.

Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП «НМИЦ онкологии» МЗ РФ (рег. № 3554742, <https://ckp-rf.ru/catalog/ckp/3554742/>).

Результаты исследования и их обсуждение

Миелоидные супрессорные клетки – гетерогенная популяция незрелых миелоидных лейкоцитов, для выявления которых разные исследователи используют разные маркеры и тактики гейтирования. Определение их содержания чаще всего проводят непосредственно в опухоли, однако определенный интерес представляет выявление отдельных представителей данной группы клеток в периферической крови онкологических больных. В связи с тем, что подобных исследований не так много, и была проведена данная работа.

Результаты исследования, полученные в случае пациентов с платиночувствительным рецидивом, представлены в таблице и на рисунке 1.

Из представленных результатов видно, что до начала лечения в спектре МСК как с единичными, так и с несколькими фенотипическими маркерами по сравнению со значениями контрольной группы значимым оказалось увеличение на 100% и 33% содержание клеток с

фенотипом соответственно CD11b+CD33+ и CD33+, на фоне чего происходило снижение на 33% количества клеток фенотипа CD14+CD15+ (рис. 1А). Обращает на себя внимание выраженное увеличение по сравнению с контрольными содержания в периферической крови клеток с ко-экспрессией нескольких фенотипических маркеров: CD14+CD15+CD11b+, CD14+CD15+CD33+ и CD14+CD11b+CD33+, соответственно на 86%, 200% и 233%, $p < 0,05$ (рис. 1Б).

В обозначенные сроки наблюдения удалось обнаружить изменения в содержании ряда отдельных групп МСК, имеющие, однако, разнонаправленный характер. Так, в случае МО-МСК, имеющих фенотип CD33+CD11b+Lin-HLA-DR-CD14+, отмечено увеличение их содержания на 336%, в то время как для клеток этой же группы, но для клеток с фенотипом CD14+HLA-Dr^{low}/-, оказалось характерно снижение количества на 66% по сравнению с контролем (рис. 1В).

В исследовании были определены и такие виды МСК, как гранулоцитарные (ГР-МСК) и промиелоцитарные (ПМ-МСК). В результате исследования обнаружено, что в периферической крови пациенток контрольной группы ГР-МСК с фенотипом CD11b+CD14-CD15+CD33+ не обнаруживались, в то время как в случае платиночувствительного рецидива РЯ их содержание составило 0,25 (0,1;0,57). На этом фоне не выявлено изменения в содержании ПМ-МСК с фенотипом Lin-HLA-DR-CD11b+ (табл., рис. 1Б).

После окончания 6 курсов химиотерапии в периферической крови пациенток основной группы, отобранных для исследования, наблюдали снижение по сравнению с контролем CD33+ МСК на 33%, что также оказалось ниже на 50% уровня этих клеток до начала лечения. Следует отметить, что, несмотря на отсутствие значимых отличий в содержании других групп МСК в данные сроки наблюдения, количество ряда типов клеток отличалось от исходного уровня. Так, показано снижение на 100% и 50% по сравнению с исходными показателями содержания клеток с фенотипом соответственно CD11b+CD33+ и CD33+, в то время как для клеток CD14+ CD15+ было характерно увеличение на 50% (рис. 1А).

Относительное содержание популяций миелоидных (супрессорных) клеток в периферической крови пациенток с рецидивом РЯ,
M[Q1;Q3]

Фенотип клеточной популяции	Контрольная группа, n=30	Основная группа 1, n=15			Основная группа 2, n=15		
		До лечения	после 6 курса лечения	через 3 месяца лечения	До лечения	после 6 курса лечения	через 3 месяца лечения
<i>Маркеры миелоидных супрессоров</i>							
CD14+	6,2 (4,8;6,5)	7,3 (5,2;7,6)	6,1 (4,9;8,2)	8,2^{1,3} (7,3;8,7)	6,8 (6,1;7,5)	9,7^{1,2,5} (8,4;11,9)	6,4² (5,9;8,4)
CD15+	66,2 (61,8;70,6)	53,5 (51,6;66,9)	59,8 (44,5;73,1)	53,8 (47,6;61,1)	55,0 (52,7;59,3)	64,9 (51,4;70,9)	60,0 (59,9;60,3)
CD11b+	78,3 (75,5;81,5)	69,9 (66,3;77,2)	72 (54,1;80,9)	60,2 (52,5;69,2)	68,3 (64,4;71,6)	79,2 (69,4;82,1)	70,2 (69;71)
CD33+	0,15 (0,08;0,2)	0,2¹ (0,1;0,2)	0,1^{1,2} (0,1;0,2)	0,4^{1,2,3} (0,3;0,7)	0,15 (0,1;0,2)	0,2^{1,2,5} (0,18;0,4)	0,5^{1,2,3} (0,4;0,7)
<i>Ко-экспрессия маркеров</i>							
CD14+CD11b+	6,1 (4,8;6,3)	6,7 (4,7;7,5)	5,6 (4,7;6,6)	7,3³ (6,6;7,5)	6,3 (6,0;7,1)	9,2^{1,2,5} (8,2;11,1)	6,1³ (5,7;7,9)
CD14+CD15+	0,15 (0,08;0,23)	0,1¹ (0,1;0,13)	0,15² (0,1;0,2)	0,5^{1,2,3} (0,3;1,3)	0,1¹ (0,03;0,14)	0,1^{1,5} (0,1;0,13)	0,2^{1,2,3,6} (0,19;0,3)
CD14+HLA-DR+	6,0 (4,5;6,2)	6,9 (4,6;7,4)	5,7 (4,4;8,1)	7,3 (6,7;7,8)	6,5 (5,9;7,3)	9,2^{1,2,5} (8,0;11,5)	5,5^{3,6} (4,4;7,6)

CD14+CD33+	0	0 (0;0)	0 (0;0,03)	0 (0;0,1)	0 (0;0)	0 (0;0,03)	0 (0;0,1)
CD11b+HLA-DR+	7,6 (5,8;7,7)	7,6 (5,4;8,1)	6,3 (4,7;6,9)	8,6³ (7,2;9,5)	7,1 (6,2;7,9)	9,5^{1,2,5} (8,1;12,6)	5,5^{3,6} (4;5,9)
CD11b+CD33+	0 (0;0,03)	0,1¹ (0;0,1)	0 (0;0,1)	0 (0;0,3)	0,1 (0;0,1)	0 (0;0,1)	0 (0;0,3)
CD14+CD11b+CD33+	0,15 (0,1;0,3)	0,5¹ (0,4;0,8)	0,3^{1,2} (0,2;0,35)	0,3^{1,2} (0,25;0,4)	0,3^{1,4} (0,28;0,4)	0,2^{1,2,5} (0,1;0,2)	0,4^{1,2,3,6} (0,35;0,4)
CD14+CD11b+ HLA-DR+	89,6 (74,2;91,2)	83,9 (75,6;86,6)	89,4 (87,7;92,1)	85,3 (75,1;91,3)	92,2 (88,2;95,4)	91,7 (89,3;94,1)	93,7 (65,8;94,0)
CD14+CD15+CD33+	0,1 (0,1;0,2)	0,3¹ (0,2;0,38)	0,2^{1,2} (0,2;0,25)	0,2^{1,2} (0,2;0,31)	0,3¹ (0,25;0,4)	0,1^{2,5} (0,1;0,12)	0,3^{1,3,6} (0,25;0,4)
CD14+CD15+CD11b+	2,2 (1,5;2,9)	4,1¹ (3;5,1)	1,8² (1,4;2,0)	4,0^{1,3} (3,2;6,5)	1,8⁴ (1,4;2,5)	1,1^{1,2,5} (0,6;1,5)	1,8^{3,6} (1,6;1,9)
	<i>MO-MCK</i>						
CD11b+CD14- HLA-DRlow/-	87,5 (79;91,5)	86,3 (82,1;90)	86,6 (79,3;93,2)	84,6 (78,7;91)	85,4 (83,8;86)	85,9 (78,3;86,6)	89,2 (85,3;90)
CD14+HLA-DRlow/-	5,3 (4,5;9,1)	1,8¹ (1,4;2,8)	1,8¹ (1,3;2,4)	2,0¹ (1,1;3,5)	1,8¹ (1,3;2,5)	3,0^{1,2,5} (2,6;4,5)	5,6^{2,3,6} (4,1;7,8)
CD33+CD11b+Lin- HLA-DR-CD14+	1,1 (0,9;1,2)	4,8¹ (2,1;8,2)	0,7^{1,2} (0,3;0,9)	4,2^{1,3} (3,1;7,1)	2,0^{1,4} (1,3;5,1)	0,55^{1,2} (0,22;0,7)	0,8^{2,3,6} (0,72;1,2)
	<i>ГР-MCK</i>						

CD11b ⁺ CD14 ⁻ CD15 ⁺ CD33 ⁺	0,0 (0;0,025)	0,25¹ (0,1;0,57)	0²	0,1^{1,2,3} (0,08;0,3)	0,1^{1,4} (0,02;0,1)	0,05^{1,2,5} (0;0,07)	0,1^{1,3} (0,08;0,2)
	<i>ПМ-МСК</i>						
Lin-HLA-DR-CD11b ⁺	87,8 (79,8;89)	86,5 (84,1;89,9)	86,4 (79,2;93,3)	77,2 (68,2;85,7)	87,0 (83,6;87,6)	83,4 (72,9;87,3)	92,4 (87,8;92,5)

Примечание: 1 – p<0,05 по сравнению со значением контроля; 2 - p<0,05 по сравнению со значениями до лечения; 3 - p<0,05 по сравнению со значением после 6-го курса лечения; 4 - p<0,05 по сравнению со значениями до лечения, группа 1; 5 - p<0,05 по сравнению со значением после 6-го курса лечения, группа 1; 6 - p<0,05 по сравнению со значением через 3 месяца лечения, группа 1.

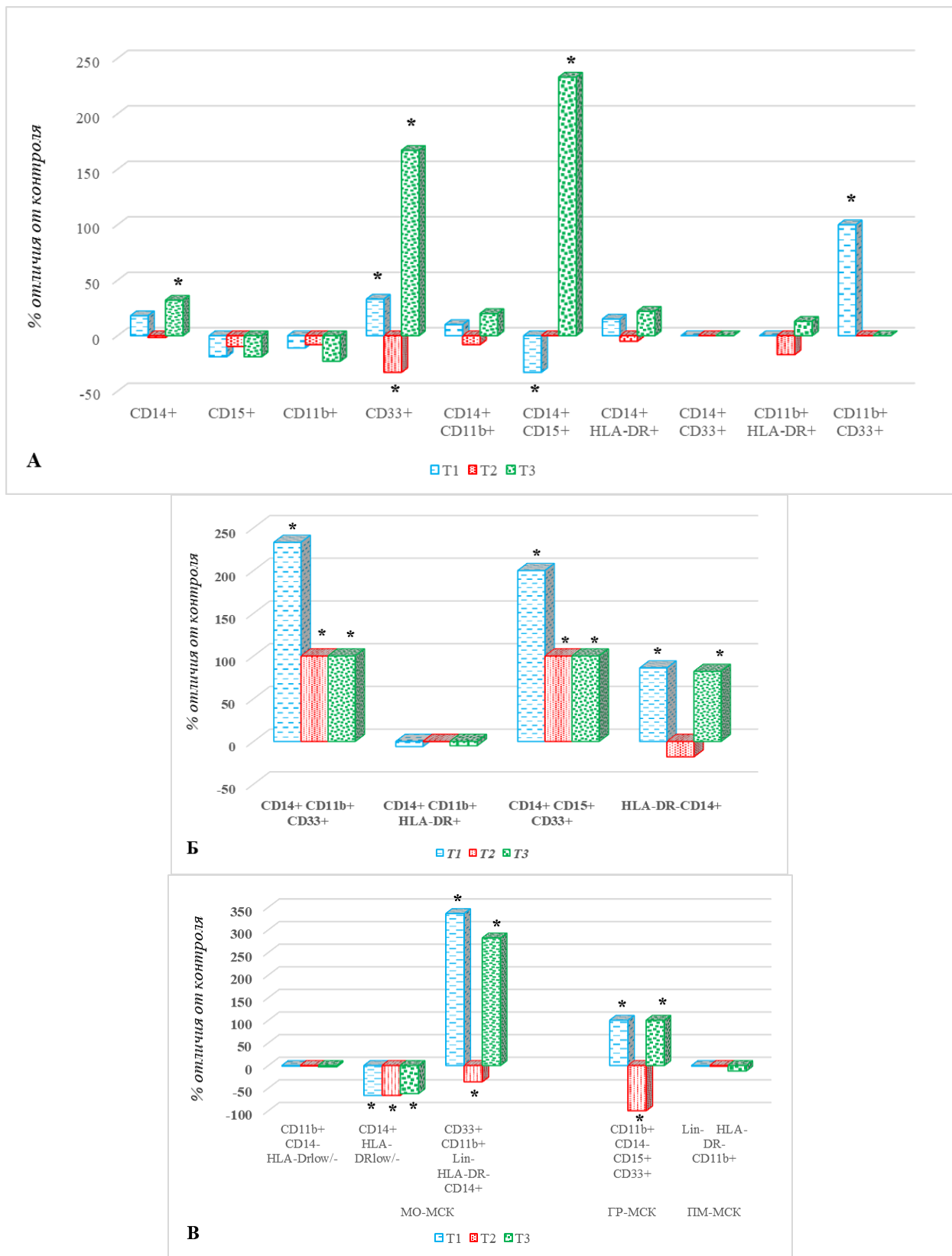


Рис. 1. Популяционный спектр МСК периферической крови больных РЯ, группа 1 – платиночувствительный рецидив: Т1 – до начала лечения; Т2 – после 6-го курса лечения; Т3 - через 3 месяца терапии. * - $p < 0,05$ относительно контроля (составлено авторами)

Разнонаправленным оказалось изменение содержания у пациенток данной группы МСК, имеющих несколько ко-экспрессированных маркеров. В случае клеток с фенотипом CD14+CD11b+CD33+ обнаружено снижение их количества по сравнению с исходными значениями на 40%, но их уровень не достигал контрольных значений и превышал их на 100% (табл., рис. 1Б). Аналогичным образом изменялось количество клеток с фенотипом CD14+CD15+CD33+, для которых показано снижение их содержания по сравнению с исходными значениями на 33%, но превышение контрольных – на 100% (рис. 1Б). Интересным представляется снижение на 56% количества CD14+CD15+CD11b+ по сравнению с уровнем до начала терапии без значимого отличия по сравнению с уровнем контрольной группы.

Применительно к отдельным группам МСК следует указать на такие особенности в рассматриваемые сроки наблюдения. В случае МСК с фенотипом CD14+HLA-Drlow/- не отличалось от исходных значений, но оставалось ниже контрольных на 66%, $p < 0,05$ (рис. 1В). На этом фоне показано значимое снижение на 85% по сравнению с исходными значениями содержания CD33+CD11b+Lin-HLA-DR-CD14+-клеток, количество которых также было ниже значений контроля на 36% (табл., рис. 1В). Обращает на себя внимание тот факт, что после 6-го курса лечения в периферической крови пациенток с платиночувствительной формой РЯ не выявляются МСК, принадлежащие подгруппам ГР-МСК и ПМ-МСК (табл.).

После 3 месяцев поддерживающей антиVEG-терапии в периферической крови пациенток основной группы оказалось значимо увеличенным содержание ряда миелоидных клеток: CD14+CD15+ - на 233% по сравнению с контрольными значениями, на 400% и 233% - по сравнению с уровнями показателя до начала лечения и через 6 курсов (табл., рис. 1А). Для популяции с фенотипом CD33+ характер изменения был аналогичен – увеличение на 167%, 100% и 300% соответственно. В рассматриваемые сроки наблюдения показано менее выраженное, но значимое увеличение на 32% количества CD14+ миелоцитов по сравнению с контролем, что также превышало данный показатель после 6-го курса на 34% (табл., рис. 1А).

Для клеток с ко-экспрессией нескольких функциональных маркеров выявлены следующие особенности. В случае клеток CD14+CD15+CD11b+ было характерно увеличение их количества по сравнению с контролем на 82%, что также превышало данный показатель после 6 курсов терапии на 122%, практически не отличаясь от исходных значений (табл.). Однако для клеток с фенотипом CD14+CD15+CD33+ и CD14+ CD11b+ CD33+ была выявлена сходная картина: их количество снижалось по сравнению со значением показателя после 6-го курса лечения, соответственно на 33% и 40%, но оставалось при этом выше контрольных значений в обоих случаях на 100% (табл., рис. 1Б).

Интерес представляет характер изменения количества МО-МСК. В результате проведенного исследования показано, что после 3 месяцев поддерживающей терапии

количество клеток с фенотипом CD33+CD11b+Lin-HLA-DR-CD14+ значительно превышало на 282% соответствующие показатели контроля, что также оказалось выше уровня на предыдущем этапе исследования на 500%, значимо не отличаясь от исходных значений (табл., рис. 1B). Кроме того, выявлено снижение по сравнению с контрольными значениями на 62% количества МО-МСК с фенотипом CD14+HLA-Dr^{low}/-, содержание которых фактически оставалось на одном уровне на всех сроках наблюдения.

В рассматриваемые сроки вновь обнаруживаются ГР-МСК, но их количество оказывается ниже на 60% содержания на этапе до проведения терапии (рис. 1B). При этом значимых изменений в содержании ПР-МСК не выявлено.

В таблице и на рисунке 2 представлены результаты определения содержания МСК различного фенотипа в периферической крови пациенток с платинорезистентным рецидивом.

Из представленных данных видно, что до начала проведения антиVGF-терапии у пациенток данной группы значимо изменялось содержание ряда МСК, ко-экспрессирующих ряд маркеров. По сравнению со значениями показателей контрольной группы в периферической крови пациенток 2-й группы содержание клеток с фенотипом CD14+CD15+ оказалось ниже на 33%, в то время как в случае клеток CD14+CD11b+CD33+ и CD14+CD15+CD33+ показано превышение соответственно на 100% и 200%, $p < 0,05$ (табл., рис. 2 А, Б).

В результате исследования показано, что у пациенток с платинорезистентной формой РЯ до начала лечения содержание МО-МСК различных фенотипов имело противоположный характер изменения. Так, для клеток с фенотипом CD14+HLA-Dr^{low}/- обнаружено снижение их содержания на 66%, в то время как количество CD33+CD11b+Lin-HLA-DR-CD14+ МО-МСК, напротив, превышало контрольные значения на 82%, $p < 0,05$ (табл., рис. 2B). На этом фоне в периферической крови пациенток 2-й группы на данном этапе исследования обнаруживались ГР-МСК с фенотипом CD11b+CD14-CD15+CD33+, а ПМ-МСК – значимо не отличалось (табл., рис. 2B).

После проведения 6 курсов терапии выявлен спектр клеток, количество которых изменилось по сравнению с уровнем контроля. На данном этапе исследования содержание CD14+ и CD33+ клеток оказалось выше контрольных, соответственно на 56% и 33%, а также выше значений данных показателей по сравнению с исходным уровнем на 43% и 33% соответственно, $p < 0,05$ (табл., рис. 2А). Выявлено увеличение количества клеток с фенотипом CD14+CD11b+ на 51%, CD14+HLA-DR+ на 53% и CD11b+HLA-DR+ на 25% по сравнению с контрольными, а также на 46%, 42% и 34% соответственно по сравнению с уровнем до начала терапии (табл., рис. 2А).

При этом содержание CD14+CD11b+CD33+ клеток превышало контроль на 33%, но оказалось на 33% меньше исходных значений (табл., рис. 2Б).

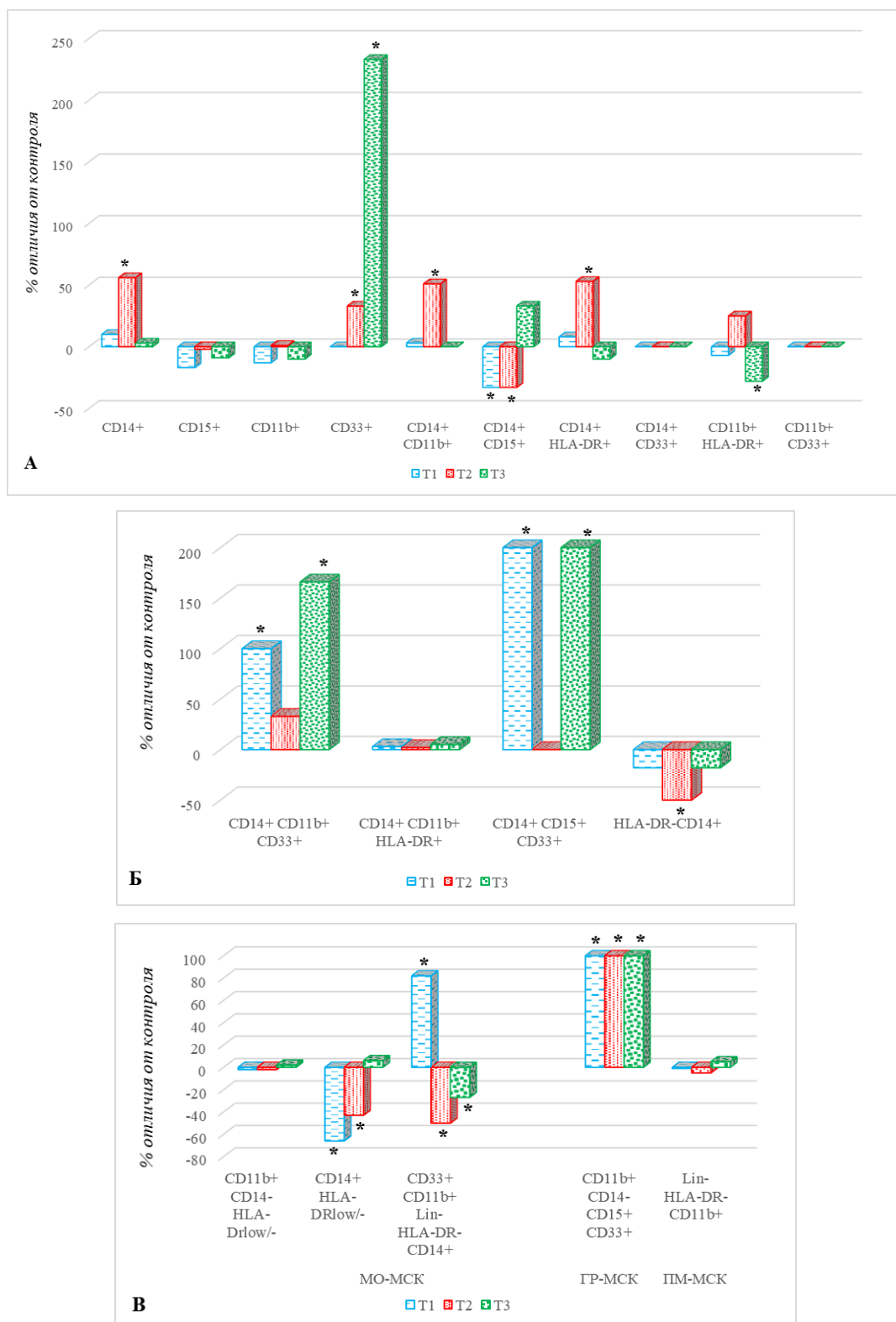


Рис. 2. Популяционный спектр МСК периферической крови больных РЯ, группа 2 – платинорезистентный рецидив: T1 – до начала лечения; T2 – после 6-го курса лечения; T3 - через 3 месяца терапии. * - $p < 0,05$ относительно контроля (составлено авторами)

Кроме того, обнаружено, что в периферической крови пациенток 2-й группы через 6 курсов терапии содержание CD14+CD15+CD11b+ клеток оказалось ниже исходных значений на 39%, что также было ниже контрольных значений на 50%, $p < 0,05$ (табл., рис. 2Б).

В обозначенные сроки наблюдения значимо отличалось от контрольных значений количество двух из трех определяемых популяций МО-МСК – с фенотипом CD33+CD11b+Lin-HLA-DR-CD14+ на 50%, а CD14+HLA-Dr^{low}/- на 43%, при этом если для первого варианта клеток уровень был ниже исходных значений на 73%, то для второй – превышало значение на 67%, $p < 0,05$ (табл., рис. 2В).

Следует отметить, что содержание ГР-МСК превышало контрольные значения на 100%, но было ниже исходных на 50%, в то время как количество ПМ-МСК значимо не отличалось ни от контрольных, ни от исходных значений (табл., рис. 2В).

Через три месяца после поддерживающей антиVEGF-терапии обнаружено выраженное увеличение по сравнению с контрольными значениями содержания CD33+ на 233%, уровень которых превышал соответствующие значения как до начала лечения – на 233%, так и после 6 курсов терапии – на 150%, $p < 0,05$ (табл., рис. 2А). Аналогичная тенденция обнаружена и в случае клеток CD14+CD15+, количество которых превышало значения контрольной группы на 33%, уровня исходных значений и после 6-го курса лечения – на 100% (табл.). На этом фоне содержание CD11b+HLA-DR+ клеток оказалось ниже контроля на 28%, а также меньше на 42% значений после 6 курсов терапии. Несмотря на то, что для некоторых популяций не выявлено значимого отличия от уровня контроля, тем не менее их количество было ниже значений после 6 курсов лечения: для CD14+ и CD14+CD11b+ на 34%, CD14+HLA-DR+ на 41%, $p < 0,05$ (табл.).

Обращает на себя внимание значимое увеличение содержания в периферической крови клеток с фенотипом CD14+CD11b+CD33+ и CD14+CD15+CD33+ по сравнению с уровнем контроля на 166% и 200% соответственно. Важно отметить, что в случае CD14+CD11b+CD33+ клеток показано превышение их количества по сравнению с обоими предыдущими сроками наблюдения – на 33% (до начала терапии) и на 100% (после 6 курсов лечения), в то время как уровень CD14+CD15+CD33+ оказался больше значений после 6-го курса терапии на 200% (табл.). Содержание клеток фенотипа CD14+CD15+CD11b+ значимо отличалось только по сравнению с их количеством на предыдущем этапе – превышало на 64% (табл.).

Анализ изменения популяций МО-МСК позволил выявить значимое снижение по сравнению с уровнем контрольной группы содержания CD33+CD11b+Lin-HLA-DR-CD14+ на 27%, что также оказалось ниже исходных значений на 60%, но превышало на 45% уровень после 6 курсов терапии (табл.). Несмотря на то, что в случае CD14+HLA-Dr^{low}/- не выявлено

значимых отличий от контрольной группы, их содержание оказалось выше как уровня до начала, так и после 6 курсов терапии, соответственно на 211% и 87%, $p < 0,05$ (табл., рис. 2В).

На фоне обозначенных особенностей содержания миелоидных клеток с различным фенотипом в периферической крови пациенток с платинорезистентной формой РЯ обнаруживается увеличение количества ГР-МСК как по сравнению со значениями контрольной группы, так и по сравнению с их уровнем после 6-го курса терапии. При этом значимых изменений в содержании ПМ-МСК не выявлено во всех вариантах сравнения.

В результате проведенного исследования выявлено значимое изменение числа отдельных типов миелоидных супрессорных клеток в периферической крови пациенток с платиночувствительным и платинорезистентным рецидивом рака яичника, имеющее определенные отличия в исследуемых группах.

При сравнении полученных результатов между обследуемыми основной группы с различной чувствительностью к препаратам платины показано, что до начала проведения лечения у пациенток 2-й группы по сравнению с значениями 1-й группы содержание некоторых популяций миелоидных клеток оказалось ниже, причём наиболее выраженное снижение на 60-58% было показано в случае ГР-МСК и одной из популяций МО-МСК - CD33+CD11b+Lin-HLA-DR-CD14+. Кроме того, количество клеток с фенотипом CD14+CD15+CD11b+, а также CD14+CD11b+CD33+ у пациенток 2-й основной группы оказалось меньше на 56% и 40% соответственно по сравнению с показателями 1-й группы.

После проведения 6 курсов антиVEGF-терапии отличия между показателями двух сравниваемых групп с различной формой РЯ по чувствительности к препаратам платины увеличиваются, что находит отражение как в числе популяций, так и в направлении изменений их содержания. Обнаружено значимое изменение в количестве 11 миелоидных клеточных популяций, причем по четырем наблюдается снижение, а по семи – увеличение соответствующих популяций у пациенток с платинорезистентным рецидивом РЯ по сравнению с платиночувствительной формой РЯ. В рассматриваемые сроки наблюдения происходит перераспределение клеточных популяций с точки зрения характера изменения их содержания, для ряда популяций остается пониженное их содержание, в то время как для других свойственно повышение их количества в периферической крови.

В частности, количество CD14+CD11b+CD33+ оказалось ниже значений группы 1 на 33%, обнаруживая тенденцию к некоторому росту по сравнению с исходными значениями, что также оказалось характерным и для CD14+CD15+CD11b+ клеток – снижение на 39%, $p < 0,05$. Кроме обозначенных клеточных популяций, содержание клеток с фенотипом CD14+CD15+CD33+ и CD14+CD15+ значимо было ниже во 2-й группе по сравнению с значениями в 1-й группе на 50% и 33% соответственно.

Одновременно с этим после 6 курсов терапии наблюдается увеличение количества целого ряда миелоидных клеток, экспрессирующих как отдельные функциональные маркеры, так и некоторые их сочетания. В частности, показано повышение содержания CD33+, CD14+ и CD14+CD11b+ клеток на 100%, 59% и 64% соответственно. Следует отметить, что в периферической крови пациенток с платинорезистентной формой РЯ после 6 курсов лечения обнаруживается повышенное содержание активированных клеток – CD14+HLA-DR+ и CD11b+HLA-DR+, количество которых было больше аналогичных значений 1-й группы на 61% и 51% соответственно.

Определенный интерес представляет и тот факт, что в рассматриваемые сроки в периферической крови пациенток 2-й группы обнаруживается увеличение содержания отдельных популяций МСК: ГР-МСК и одной из разновидностей МО-МСК с фенотипом CD14+HLA-Drlow/-, количество которых оказалось выше значений в 1-й группе на 100% и 67% соответственно.

Через 3 месяца поддерживающей антиVEGF-терапии при платинорезистентной форме РЯ отмечается также очередное перераспределение между изменяющимися клеточными популяциями МСК. В данные сроки наблюдения выявлено отличие между сравниваемыми группами в содержании восьми популяциях, для пяти из которых показано снижение показателя, а для трех, напротив, их увеличение.

В рассматриваемые сроки наблюдения отмечено дальнейшее уменьшение на 60% и 55% количества как CD14+CD15+, так и CD14+CD15+CD11b+ соответственно. Причём содержание последнего типа клеток было значимо ниже значений 1-й группы во всех точках наблюдения. Кроме того, для одного из вариантов МО-МСК, клеток с фенотипом CD33+CD11b+Lin-HLA-DR-CD14+ показано более выраженное снижение содержания на 81% по сравнению с 1-й группой, аналогичное по направлению изменения, наблюдаемому на этапе до начала лечения, несмотря на обратную динамику после 6-го курса терапии.

Обращает на себя внимание и тот факт, что после 3 месяцев поддерживающей терапии у пациенток с платинорезистентным рецидивом РЯ наблюдаются более низкие количества активированных клеток с фенотипом CD14+HLA-DR+ и CD11b+HLA-DR+, содержание которых оказалось меньше значений 1-й группы, соответственно на 26% и 36%, $p < 0,05$.

Среди популяций, количество которых оказалось выше в случае резистентного рецидива, выделяется один из вариантов МО-МСК, клетки с фенотипом CD14+HLA-Drlow/-, их содержание превышало значения 1-й группы на 180%. Одновременно с этим после 3 месяцев поддерживающей терапии у пациенток 2-й группы наблюдается более высокое содержание клеток с фенотипом CD14+CD11b+CD33+ и CD14+CD15+CD33+, соответственно на 33% и 50%.

В настоящее время показано, что различные типы МСК задействуют несколько механизмов, обуславливающих иммуносупрессивный эффект данных клеток. В частности, для некоторых типов клеток характерным является задействование метаболизма L-аргинина посредством активации таких ферментов, как iNOS и ARG1, продукты которых модифицируют TCR, способствуют остановке клеточного цикла и индукции апоптоза Т-лимфоцитов. Отличительной особенностью МСК является способность к повышенной секреции различного спектра активированных кислородных метаболитов (АКМ), свободнорадикальных молекул, оказывающих разнообразные эффекты как на опухолевые клетки, так и на гетерогенное их окружение, в том числе и на клетки иммунной системы. Интересным является тот факт, что АФК способны влиять на незрелые миелоидные клетки, снижая их способность дифференцироваться в макрофаги и дендритные клетки, а также влиять на образование иммунного синапса [12; 13]. Показано, что ГР-МСК продуцируют большее количество нестабильных АФК, что требует более тесного их контакта с Т-клетками, в то время как МО-МСК продуцируют большее количество относительно стабильных NO, ARG1 и иммуносупрессивных цитокинов, что придает последнему типу МСК большую иммуносупрессивную активность [14; 15].

МСК напрямую подавляют противоопухолевый ответ Т-клеток и NK-клеток с помощью различных механизмов, включая экспрессию и выработку иммуносупрессивных молекул и внеклеточных везикул, истощение запасов незаменимых аминокислот, активацию других иммуносупрессивных клеток (Treg, Vreg) и ингибирование миграции Т-клеток [16-18]. МСК также способствуют развитию и метастазированию опухолей, индуцируя ангиогенез, реорганизуя внеклеточный матрикс и поддерживая выживаемость и распространение раковых клеток [19; 20].

В совокупности эти наблюдения позволяют предположить, что образование МСК и приобретение ими иммуносупрессивной функции при раке - это многоэтапный процесс, стимулируемый постоянным притоком медиаторов воспаления. Такая среда приводит к дисбалансу в дифференцировке миелоидных клеток в костном мозге, вызывая избыток миелоидных клеток-предшественников. Миелоидные клетки, как незрелые, так и зрелые, впоследствии подвергаются воздействию сигналов, связанных с воспалением в периферических тканях, особенно в микроокружении опухоли, куда они привлекаются различными хемокинами. Такие сигналы могут передаваться как растворимыми факторами, так и факторами, содержащимися во внеклеточных везикулах, запуская генерацию, размножение, миграцию и активацию миелоидных супрессорных клеток [15].

Различные методы лечения рака, такие как химиотерапия, таргетная терапия, лучевая терапия и гормонотерапия, могут модулировать генерацию, миграцию и функции МСК.

Химиотерапевтические препараты обычно уменьшают количество МСК, тем самым повышая эффективность лечения в сочетании с иммунотерапией [21; 22].

Показано, что некоторые препараты, предназначенные для непосредственного воздействия на опухолевые клетки, такие как сунитиниб, акалабрутиниб, иматиниб, нилотиниб, вемурафениб и энтинолат, также могут подавлять рекрутирование и функционирование миелоидных супрессорных клеток [23; 24]. Однако миелоидные супрессорные клетки также могут способствовать устойчивости раковых клеток к химиотерапии или гормональной терапии [25].

Понимание ключевых механизмов, регулирующих иммуносупрессию в опухолевой среде, может помочь в разработке новых иммунотерапевтических стратегий и подходов для повышения эффективности существующих методов лечения. Например, резистентность к ингибиторам иммунных контрольных точек и другим методам иммунотерапии потенциально можно преодолеть, воздействуя на миелоидные супрессорные клетки. Однако гетерогенность миелоидных супрессорных клеток значительно затрудняет подавление их функций. Кроме того, применение терапевтических подходов, нацеленных на миелоидные супрессорные клетки, ограничено их фенотипическим сходством с неиммуносупрессивными миелоидными клетками, что подразумевает отсутствие уникальных маркеров миелоидных супрессорных клеток [15].

Заключение

Таким образом, для определения подтипов МСК в качестве мишеней для иммунотерапии и биомаркеров реакции на современные методы лечения рака необходимо более глубокое понимание механизмов образования, привлечения и функционирования МСК. Учитывая функциональную роль данных клеток, выражающуюся в различном противо- и проопухолевом потенциале, можно предположить, что динамика изменения их содержания в системном кровотоке может иметь определенное значение как в прогнозировании эффекта от проводимого лечения, так и служить в качестве дополнительного критерия выбора потенциальных мишеней для сопроводительной терапии рака яичников.

Соблюдение этических стандартов: в работе соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ред. 2013). Исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (выписка из протокола заседания № 18 от 09.09.2024 г.). Информированное согласие получено от всех участников исследования.

Список литературы

1. Ferlay J., Ervik M., Lam F., Laversanne M., Colombet M., Mery L., Piñeros M., Znaor A., Soerjomataram I., Bray F. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer // Global Cancer Observatory: Cancer Today. 2024. URL: <https://gco.iarc.who.int/today> (дата обращения 02.03.2026).
2. Каприн А. Д., Старинский В. В., Шахзадова А. О. Состояние онкологической помощи населению России в 2024 году. М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2025. 275 с.
3. Покатаев И. А., Дудина И. А., Коломиец Л. А. и соавт. Рак яичников, первичный рак брюшины и рак маточных труб. Практические рекомендации RUSSCO, часть 1.2 // Злокачественные опухоли. 2024. Т. 14 (3s2). С. 82–101. DOI: 10.18027/2224-5057-2024-14-3s2-1.2-02.
4. Colombo N., Sessa C., du Bois A., Ledermann J., McCluggage W.G., McNeish I., Morice P., Pignata S., Ray-Coquard I., Vergote I., et al. ESMO-ESGO Ovarian Cancer Consensus Conference Working Group. ESMO-ESGO consensus conference recommendations on ovarian cancer: pathology and molecular biology, early and advanced stages, borderline tumours and recurrent disease // *Ann. Oncol.* 2019. Vol. 30. P. 672–705. DOI: 10.1093/annonc/mdz062.
5. Владимирова Л. Ю., Сторожакова А. Э., Калабанова Е. А., Вереникина Е. В., Кабанов С. Н., Светицкая Я. В., Саманева Н. Ю., Тихановская Н. М., Новоселова К. А., Селезнева О. Г., Тишина А. В. Опыт применения бевацизумаба в поддерживающей терапии у больных раком яичников // Южно-российский онкологический журнал. 2020. Т. 1 (3). С. 67-74. DOI: 10.37748/2687-0533-2020-1-3-7.
6. Кит О. И., Франциянц Е. М., Моисеенко Т. И., Вереникина Е. В., Черярина Н. Д., Козлова Л. С., Погорелова Ю. А. Семейство факторов роста vegf в ткани рака яичников на разных стадиях развития // *Международный журнал экспериментального образования.* 2016. № 8. С. 115. EDN: WKSRJN.
7. Hara H., Kobayashi A., Yoshida K., Ohashi M., Ohnami S., Uchida E., Higashihara E., Yoshida T., Aoki K. Local interferon-alpha gene therapy elicits systemic immunity in a syngeneic pancreatic cancer model in hamster // *Cancer Sci.* 2007. Vol. 98. P. 455–463. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2007.00408.x.
8. Hwang W. T., Adams S. F., Tahirovic E., et al. Prognostic significance of tumor- infiltrating T cells in ovarian cancer: a meta- analysis // *Gynecol Oncol.* 2012. Vol. 124. P. 192–198. DOI: 10.1016/j.ygyno.2011.09.039.

9. Cui T. X., Kryczek I., Zhao L., et al. Myeloid-derived suppressor cells enhance stemness of cancer cells by inducing microRNA101 and suppressing the corepressor CtBP2. // *Immunity*. 2013. Vol. 39. P. 611–21. DOI: 10.1016/j.immuni.2013.08.025.
10. Santegoets S. J. A. M., de Groot A. F., Dijkgraaf E. M., et al. The blood mMDSC to DC ratio is a sensitive and easy to assess independent predictive factor for epithelial ovarian cancer survival // *Oncoimmunology*. 2018. Vol. 7. Is. 8. P. e1465166. DOI: 10.1080/2162402X.2018.1465166.
11. Заботина Т. Н., Панчук И. О., Табаков Д. В., Захарова Е. Н. Миелоидные супрессорные клетки: происхождение, фенотип, функции, механизмы взаимодействия с иммунными клетками при опухолевом росте // *Практическая онкология*. 2020. Т. 21 (3). С. 249-261. DOI: 10.31917/2103249.
12. Corzo C. A., Cotter M. J., Cheng P., Cheng F., Kusmartsev S., Sotomayor E., Padhya T., McCaffrey T. V., McCaffrey J. C., Gabrilovich D. I. Mechanism regulating reactive oxygen species in tumor-induced myeloid-derived suppressor cells // *J. Immunol*. 2009. Vol. 182. Is. 9. P. 5693-701. DOI: 10.4049/jimmunol.0900092.
13. Lasser S. A., Ozbay Kurt F. G., Arkhypov I. et al. Myeloid-derived suppressor cells in cancer and cancer therapy // *Nat Rev Clin Oncol*. 2024. Vol. 21. P. 147–164. DOI: 10.1038/s41571-023-00846-y.
14. Groth C. et al. Immunosuppression mediated by myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) during tumour progression // *Br. J. Cancer*. 2019. Vol. 120. P. 16–25. DOI: 10.1038/s41416-018-0333-1.
15. Özkan B., Lim H., Park S.-G. Immunomodulatory function of myeloid-derived suppressor cells during B cell-mediated immune responses // *Int. J. Mol. Sci*. 2018. Vol. 19: 1468. DOI: 10.3390/ijms19051468.
16. Ma T. et al. Myeloid-derived suppressor cells in solid tumors // *Cells*. 2022. Vol. 11. P. 310. DOI: 10.3390/cells11020310.
17. Condamine T., Ramachandran I., Youn J.-I., Gabrilovich D. I. Regulation of tumor metastasis by myeloid-derived suppressor cells // *Annu. Rev. Med*. 2015. Vol. 66. P. 97–110. DOI: 10.1146/annurev-med-051013-052304.
18. Safarzadeh E., Orangi M., Mohammadi H., Babaie F., Baradaran B. Myeloid-derived suppressor cells: important contributors to tumor progression and metastasis // *J. Cell. Physiol*. 2018. Vol. 233. P. 3024–3036. DOI: 10.1002/jcp.26075.
19. Gebhardt C. et al. Potential therapeutic effect of low-dose paclitaxel in melanoma patients resistant to immune checkpoint blockade: a pilot study // *Cell. Immunol*. 2021. Vol. 360. № 104274. DOI: 10.1016/j.cellimm.2020.104274.

20. Huijts C. M. et al. The effect of everolimus and low-dose cyclophosphamide on immune cell subsets in patients with metastatic renal cell carcinoma: results from a phase I clinical trial // *Cancer Immunol. Immunother.* 2019. Vol. 68. P. 503–515. DOI: 10.1007/s00262-018-2288-8.
21. Zahoor H. et al. Phase II trial of continuous treatment with sunitinib in patients with high-risk (BCG-refractory) non-muscle invasive bladder cancer // *Invest. New Drugs.* 2019. Vol. 37. P. 1231–1238. DOI: 10.1007/s10637-018-00716-w.
22. Overman M. et al. Randomized phase II study of the Bruton tyrosine kinase inhibitor acalabrutinib, alone or with pembrolizumab in patients with advanced pancreatic cancer // *J. Immunother. Cancer.* 2020. Vol. 8: e000587. DOI: 10.1136/jitc-2020-000587.
23. Li J. et al. CD39/CD73 upregulation on myeloid-derived suppressor cells via TGF- β -mTOR-HIF-1 signaling in patients with non-small cell lung cancer // *Oncoimmunology.* 2017. Vol. 6. P. e1320011. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1320011.
24. Calcinotto A. et al. IL-23 secreted by myeloid cells drives castration-resistant prostate cancer // *Nature.* 2018. Vol. 559. P. 363–369. DOI: 10.1038/s41586-018-0266-0.
25. Li K., Shi H., Zhang B. et al. Myeloid-derived suppressor cells as immunosuppressive regulators and therapeutic targets in cancer // *Sig Transduct Target Ther.* 2021. Vol. 6. P. 362. DOI: 10.1038/s41392-021-00670-9.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest: The authors declare that there is no conflict of interest.

Финансирование: Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования.

Financing: The research was performed without external funding.