

УДК 616-091.811

DOI: <https://doi.org/10.17816/brmma321384>

Научная статья



ОСОБЕННОСТИ ИММУНОФЕНОТИПА СТВОЛОВЫХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЯХ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

Н.А. Майстренко, В.С. Чирский, А.А. Ерохина, А.А. Сазонов

Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Рассматриваются особенности иммунофенотипа стволовых клеток толстой кишки при различных стадиях заболевания, оценивается их влияние на распространенность онкологического процесса. С помощью микроскопического и иммуногистохимического методов исследован операционный материал 67 пациентов с морфологически верифицированной аденокарциномой толстой кишки. В зависимости от распространенности неопластического процесса больные были разделены на две группы. Первую группу составили 32 пациента, страдающие локализованной формой колоректального рака ($T_{3-4a}N_0M_0$). Во вторую группу вошли 35 больных, страдающих колоректальным раком с синхронными моноорганными метастазами в печени ($T_{3-4a}N_{0-2}M_{1a(hep)}$). При оценке иммунофенотипа опухоли не выявлено связи индекса общей пролиферативной активности иммуногистохимического маркера Ki67 со стадией заболевания ($p = 0,108$). При сравнении иммунофенотипа стволовых опухолевых клеток в группе больных, страдающих метастатическим колоректальным раком, были выявлены статистически значимо более высокие уровни экспрессии следующих иммуногистохимических маркеров: ALDH1⁺ ($p = 0,028$), ALDH1⁺Ki67⁺ ($p = 0,0002$) и CXCR4⁺ ($p = 0,005$). Полученные результаты свидетельствуют о выраженной связи иммуногистохимических маркеров, характеризующих стволовую клеточную популяцию, с распространенностью опухоли. Следовательно, такие маркеры, как ALDH1⁺, ALDH1⁺Ki67⁺ и CXCR4⁺, характеризуют молекулярно-биологические свойства стволовых опухолевых клеток и могут быть использованы в клинической практике для уточнения потенциала биологической агрессивности аденокарциномы толстой кишки. Установлено, что медиана индекса пролиферации стволовых клеток, который учитывает удельный вес пролиферирующих клеток только внутри популяции стволовых клеток, а не всего клеточного пула, в группе больных, страдающих локализованным колоректальным раком, равнялась 16 %. Вместе с тем ни у одного пациента, страдающего II стадией заболевания, уровень пролиферации стволовых клеток не превышал 50 %, а значение индекса пролиферации стволовых клеток варьировало от 0 до 50 %. Медиана индекса пролиферации стволовых клеток в группе пациентов, страдающих метастатическим колоректальным раком, равнялась 45,5 %, а значения данного показателя варьировали от 7 до 100 %, при этом индекс пролиферации стволовых клеток у них был достоверно ($p = 0,00001$) выше, чем в группе больных, страдающих локализованным опухолевым процессом. Учитывая малочисленность популяции стволовых опухолевых клеток, для более точной характеристики их пролиферативной активности целесообразно определение индекса пролиферации стволовых клеток.

Ключевые слова: аденокарцинома толстой кишки; иерархическая теория канцерогенеза; иммуногистохимический метод; колоректальный рак; стволовых клеточные маркеры; стволовые опухолевые клетки; пролиферирующие клетки.

Как цитировать:

Майстренко Н.А., Чирский В.С., Ерохина А.А., Сазонов А.А. Особенности иммунофенотипа стволовых опухолевых клеток при различных стадиях колоректального рака // Вестник Российской военно-медицинской академии. 2023. Т. 25, № 2. С. 229–238. DOI: <https://doi.org/10.17816/brmma321384>

DOI: <https://doi.org/10.17816/brmma321384>

Research article

FEATURES OF THE IMMUNOPHENOTYPE OF CANCER STEM CELLS IN DIFFERENT STAGES OF COLORECTAL CANCER

N.A. Maistrenko, V.S. Chirsky, A.A. Erokhina, A.A. Sazonov

Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

ABSTRACT. This study examines the immunophenotype characteristics of the stem cell population in colon adenocarcinoma at various stages of the disease and evaluates their impact on the prevalence of the oncological process. The research involved analyzing surgical specimens from 67 patients with histologically confirmed colon adenocarcinoma using microscopic and immunohistochemical techniques. The patients were divided into two groups based on the extent of the neoplastic process. The first group consisted of 32 patients with localized colorectal cancer ($T_{3-4a}N_0M_0$), while the second group included 35 patients with colorectal cancer with synchronous monoorgan liver metastases ($T_{3-4a}N_{0-2}M_{1a}(\text{hep})$). The study assessed the immunophenotype of the tumor and investigated its correlation with the disease stage. The analysis revealed no significant correlation between the proliferative activity index of the immunohistochemical marker Ki67 and the stage of the disease ($p = 0.108$). However, when comparing the immunophenotype of stem tumor cells in the group of patients with metastatic colorectal cancer, statistically significantly higher levels of expression were observed for the following immunohistochemical markers: ALDH1⁺ ($p = 0.028$), ALDH1⁺Ki67⁺ ($p = 0.0002$), and CXCR4⁺ ($p = 0.005$). These results indicate a strong association between immunohistochemical markers characterizing the stem cell population and the prevalence of the tumor. Therefore, markers such as ALDH1⁺, ALDH1⁺Ki67⁺, and CXCR4⁺ can provide valuable insights into the molecular and biological properties of stem tumor cells, aiding in the clinical assessment of the potential aggressiveness of colon adenocarcinoma. The study also found that the median stem cell proliferation index, which considers the proportion of proliferating cells only within the stem cell population and not the entire cell pool, in the group of patients with localized colorectal cancer was 16%. Notably, none of the patients in stage II of the disease had a stem cell proliferation level below 50%, and the stem cell proliferation index ranged from 0% to 50%. Notably, none of the patients in stage II of the disease had a stem cell proliferation level below 50%, and the stem cell proliferation index varied from 0% to 50%. In contrast, the median index of stem cell proliferation in the group of patients with metastatic colorectal cancer was 45.5%, with values ranging from 7% to 100%. The stem cell proliferation index in this group was significantly higher ($p = 0.00001$) than that in the group with localized tumor processes. Considering the small population of stem tumor cells, determining the index of stem cell proliferation is advisable for a more accurate assessment of their proliferative activity.

Keywords: colon adenocarcinoma; hierarchical theory of carcinogenesis; immunohistochemical method; colorectal cancer; stem cell markers; stem tumor cells; proliferating cells.

To cite this article:

Maistrenko NA, Chirsky VS, Erokhina AA, Sazonov AA. Features of the immunophenotype of cancer stem cells in different stages of colorectal cancer. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2023;25(2):229–238. DOI: <https://doi.org/10.17816/brmma321384>

Received: 15.03.2023

Accepted: 15.05.2023

Published: 16.06.2023

ВВЕДЕНИЕ

Колоректальный рак (КРР) на сегодняшний день занимает ведущие позиции в мире по заболеваемости и смертности в общей структуре онкологической патологии [1, 2]. Согласно современным исследованиям, каждый год на нашей планете выявляется почти 2 млн новых случаев рака толстой кишки, при этом в большинстве развитых стран отмечается прирост заболеваемости [3, 4]. В нашей стране ежегодно регистрируется более 70 тыс. новых случаев рака толстой кишки [1, 5]. КРР занимает третье место в общей структуре онкологической заболеваемости среди мужчин после рака легкого и простаты и второе среди женщин, уступая новообразованиям молочной железы. Как следствие, в общей структуре онкологической заболеваемости в совокупной половой популяции рак толстой кишки занимает в настоящее время лидирующие позиции [5].

Несмотря на активное развитие хирургической онкологии, внедрение новых схем химиотерапевтического лечения, летальность при КРР остается высокой. Ежегодно в мире погибает около 1 млн больных раком толстой кишки, что составляет почти 10 % в структуре мировой онкологической смертности [1, 2].

Важнейшим направлением в улучшении результатов лечения больных КРР, несомненно, является совершенствование алгоритмов диагностики данного заболевания. Согласно современным онкологическим позициям, обследование больных раком толстой кишки, наряду с ранним выявлением опухоли, должно обеспечивать комплексную оценку потенциала ее агрессивности. В этой связи особый интерес представляет иммуногистохимическое (ИГХ) исследование аденокарциномы толстой кишки, позволяющее оценить ее молекулярно-биологические свойства [4, 6]. Вместе с тем до настоящего времени не разработаны алгоритмы ИГХ диагностики КРР, а сведения о клинической значимости маркеров носят противоречивый характер [2, 4, 7].

Таким образом, изучение иммунофенотипа аденокарциномы толстой кишки на сегодняшний день является важным научным направлением. В этой связи стволовые опухолевые клетки (СОК) представляются наиболее интересной и перспективной точкой его приложения, поскольку согласно иерархической модели канцерогенеза они играют ведущую роль в инициации и прогрессировании неопластического процесса [8–10]. Предполагаемым источником данного вида клеток в аденокарциноме толстой кишки является стволовая клетка базального отдела кишечной крипты, в которой происходят генетические изменения, превращающие ее в раковую [9, 11]. Согласно современным представлениям, для полного уничтожения колоректальной аденокарциномы необходима ликвидация ее стволовоклеточного клона [10, 12]. Вместе с тем популяция СОК очень малочисленна, изменчива и трудно идентифицируема, в связи с чем имеется множество

сложностей в поиске иммуногистохимических маркеров, подтверждающих принадлежность опухолевой клетки к клону стволовых и обладающих высоким уровнем чувствительности и специфичности [7, 10]. Кроме того, исследования, направленные на изучение связи экспрессии стволовоклеточных маркеров с прогнозом заболевания, носят единичный характер, а их результаты остаются весьма противоречивыми [2, 13].

Таким образом, КРР характеризуется высокими показателями заболеваемости и смертности, которые не позволяют усомниться в актуальности проблемы совершенствования алгоритмов диагностики и лечения данной патологии. Одним из важных путей ее решения является изучение молекулярно-биологических свойств новообразований толстой кишки, позволяющее уточнить потенциал их агрессивности и более обоснованно подойти к выбору лечебной тактики. В этой связи оценка иммунофенотипа СОК как наиболее значимой с позиции канцерогенеза и метастазирования популяции представляется одним из наиболее перспективных направлений.

Цель исследования — определить особенности иммунофенотипа стволовоклеточной популяции аденокарциномы толстой кишки при различных стадиях заболевания и оценить их влияние на распространенность онкологического процесса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследован операционный материал (первичная опухоль) 67 пациентов с гистологически верифицированным диагнозом: аденокарцинома толстой кишки. В зависимости от распространенности неопластического процесса больные были разделены на 2 группы. Первую группу составили 32 пациента, страдающие локализованной формой КРР ($T_{3-4a}N_0M_0$, II стадия). Во вторую группу вошли 35 больных, страдающих КРР с синхронными моноорганными метастазами в печени ($T_{3-4a}N_{0-2}M_{1a(hep)}$, IVa стадия). Клинико-морфологические показатели пациентов обеих групп представлены в таблице 1.

Для идентификации стволовых свойств клеток и оценки их пролиферативной активности использовался иммуногистохимический метод с применением двойного окрашивания антителами к альдегиддегидрогеназе 1-го типа (Aldehyde dehydrogenase 1 family — ALDH1) и к белку Ki-67. В качестве маркера, отражающего стволовые свойства клеток, выбран ALDH1. Данный дезинтоксикационный фермент вследствие катализа окисления внутриклеточных альдегидов придает устойчивость клетки к алкилирующим агентам. По мнению ряда авторов [13–15], способность альдегиддегидрогеназы к защите стволовых клеток от окислительного воздействия может лежать в основе устойчивости их популяции. Кроме того, экспериментальным путем было установлено, что ALDH1 является одним из наиболее селективных маркеров, так

Таблица 1. Клинико-морфологические показатели пациентов обеих групп, абс. (%)
Table 1. Clinical and morphological indicators of patients of both groups, abs. (%)

Показатель	Группа	
	1-я	2-я
Женщины	20 (62,5)	22 (63)
Мужчины	12 (37,5)	13 (37)
Средний возраст, лет	59,7 ± 4,3	60,3 ± 4,5
Степень дифференцировки:		
– высокая (G1)	1 (3)	4(11,5)
– умеренная (G2)	27 (84,5)	27 (77)
– низкая (G3)	4 (12,5)	4 (11,5)
Локализация опухоли:		
– ободочная кишка	14 (44)	22 (63)
– слепая кишка	2 (6)	3 (8,5)
– восходящий отдел	2 (6)	3 (8,5)
– поперечная	2 (6)	4 (11,5)
– нисходящий отдел	1 (3)	2 (6)
– сигмовидная	7 (22)	10 (28,5)
– прямая кишка	18 (56)	13 (37)
– верхнеампулярный отдел	11 (34)	10 (28,5)
– среднеампулярный отдел	7 (22)	3 (8,5)
Метастазы в регионарные лимфоузлы	–	9 (26)
Физический статус пациентов по шкале ASA:		
– II	21 (66)	14 (40)
– III	11 (34)	17 (48,5)
– IV		4 (11,5)

Примечание: ASA — American Society of Anesthesiologists (Американское общество анестезиологов).

как меньшее число ALDH1⁺ клеток по сравнению с другими (CD44⁺- и CD24⁻-клетками) было способно вызвать развитие опухоли у лабораторных животных [16].

Для постановки реакции с двойным окрашиванием на срезы с парафиновых блоков после депарафинизации и демаскировки наносили смесь из двух антител: anti-Ki-67 (клон MIB-1, DAKO, Дания, кат. номер M724001, разведение 1 : 50) и anti-ALDH1 (клон EP1932Y, Abcam, Великобритания, кат. номер ab134188, разведение 1 : 200). С целью выявления антител использовалась двойная система детекции DoubleStain IHC Kit: M&R on human tissue и DAB-раствор хромогена. Заключение срезов осуществлялось с помощью среды CC/Mount.

Оценка пролиферативных свойств стволовых клеток проводилась в фокусах аденокарциномы, соответствующих максимальной инвазии. Антитела к ALDH1 окрашивали цитоплазму СОК в красный цвет. Антитела к белку Ki-67 окрашивали ядра в делящихся клетках в коричневый цвет. Контролем служили препараты нормальной слизистой оболочки толстой кишки. В зависимости от комбинации окрашивания клеточных компонентов были выделены 4 популяции опухолевых клеток (рис. 1).

На гистологических препаратах каждого пациента в фокусах аденокарциномы, соответствующих максимальной инвазии, проводили количественную оценку

описанных выше клеток в 10 случайных полях зрения при увеличении × 400. Производился расчет среднего количества клеток в популяции и долевое соотношение между выделенными компонентами опухолевого дифферона, а также отношение стволовых (ALDH1⁺) и пролиферирующих клеток (Ki-67⁺) к общему числу опухолевых клеток. Определяли индекс общей пролиферативной активности Ki-67: отношение количества Ki-67-позитивных клеток к общему количеству опухолевых клеток, выраженное в процентах.

Для оценки потенциала метастазирования КРР применялось антитело к хемокиновым рецепторам 4-го типа anti-CXCR4 (anti-CXCR4, клон UMB-2, Abcam, Великобритания, кат. номер ab124824, разведение 1 : 50). На сегодняшний день известно, что хемокиновые лиганды и их рецепторы не только отвечают за движение лейкоцитов, но и играют важнейшую роль в процессе генерализации опухолей, регулируя органоселективность (органоспецифичность) метастазов [17–20]. Кроме того, считается, что CXCR4 является одним из маркеров стволовых клеток аденокарциномы толстой кишки [21, 22]. Для выявления потенциала метастазирования применялась методика тканевых матриц — было изготовлено 5 мультиблоков ТМА (tissue microarray) из гистологического материала всей выборки пациентов. Для каждого опухолевого

образца было выбрано от 1 до 3 точек, соответствующих максимальной клеточности новообразования. Ткань из выбранных фокусов была перемещена в мультиблок. Срезы с данных блоков переносились на стекла с поли-L-лизиновым покрытием, подвергались подсушиванию, депарафинизации в термостате. Визуализация реакции осуществлялась при помощи системы EnVision Real («ДАКО», Дания) и диаминобензидина в качестве хромогена. Препараты докрашивались гематоксилином с последующей обработкой спиртами и ксилолами. Для заключения использовали среду «Витрогель».

Оценка потенциала метастазирования осуществлялась путем подсчета доли положительно окрашенных клеток в 5–15 полях зрения при увеличении $\times 400$. Положительная реакция определялась наличием коричневых гранул в цитоплазме (рис. 2). Затем для каждого наблюдения высчитывалось среднее значение положительно окрашенных клеток по всем исследованным полям зрения.

Статистический анализ осуществлялся на базе персонального компьютера и программы Statistica for Windows (12.0). Во всех исследуемых группах проводилась оценка нормальности распределения количественных показателей с помощью критерия Шапиро — Уилка. Количественные показатели с распределением, отличным от нормального, представлены в виде медиан, при их сравнении использовали непараметрический критерий Манна — Уитни. Корреляционный анализ проводился с помощью коэффициента корреляции Спирмена. Различия между независимыми выборками и корреляция показателей считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Сила корреляционной связи оценивалась по значению коэффициента корреляции: при $r < 0,3$ связь считалась слабой, при $0,3 < r < 0,7$ — умеренной, при $r > 0,7$ — сильной.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При оценке общей пролиферативной активности новообразования статистически значимых различий по индексу общей пролиферативной активности Ki-67 не прослежено: в группе пациентов, страдающих локализованной формой КРП, медианное значения индекса Ki-67 составило 37,9 %, в группе пациентов, страдающих метастатическим раком толстой кишки, данный показатель равнялся 44,2 % ($p = 0,108$). При анализе ИГХ экспрессии ALDH1 были получены следующие данные: удельный вес клеток с положительным цитоплазматическим окрашиванием в группе пациентов, страдающих локализованным раком толстой кишки, составил 2,6 %, а в группе пациентов, страдающих метастатической формой КРП — 3,7 %. Различия между группами являлись статистически значимыми (рис. 3).

В рамках комплексного изучения популяции СОК определялась их структура с позиции пролиферативной активности. Самой распространенной популяцией в обеих клинических группах стали дифференцирующиеся клетки с иммунофенотипом ALDH1⁺Ki-67⁻, меньшая доля

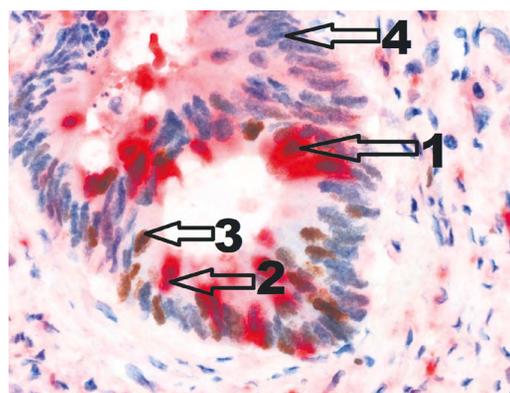


Рис. 1. Компоненты дифферона аденокарциномы толстой кишки. Двойное ИГХ окрашивание антителами к ALDH1 и Ki-67 с контр-окрашиванием гематоксилином. Ув. $\times 400$. Стрелками указаны исследуемые популяции опухолевых клеток: 1 — стволовые пролиферирующие (ALDH1⁺Ki-67⁺); 2 — стволовые непролиферирующие (ALDH1⁺Ki-67⁻); 3 — клетки-прогениторы (ALDH1⁻Ki-67⁺); 4 — дифференцирующиеся (ALDH1⁻Ki-67⁻)

Fig. 1. Differential components of colon adenocarcinoma. Double immunohistochemical staining with antibodies to ALDH1 and Ki-67, with hematoxylin counterstaining. Magnification $\times 400$. The arrows indicate the studied populations of tumor cells: 1 — stem proliferating (ALDH1⁺Ki-67⁺); 2 — stem nonproliferating (ALDH1⁺Ki-67⁻); 3 — progenitor cells (ALDH1⁻Ki-67⁺); 4 — differentiating (ALDH1⁻Ki-67⁻)

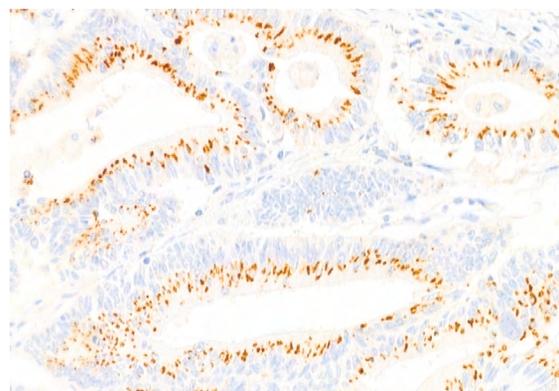


Рис. 2. Иммуногистохимическое исследование рецепторов к хемокинам 4-го типа (CXCR4). Определяется положительная цитоплазматическая гранулярная реакция. Ув. $\times 200$

Fig. 2. Immunohistochemical study of type 4 chemokine receptors (CXCR4). Positive cytoplasmic granular reaction. Magnification $\times 200$

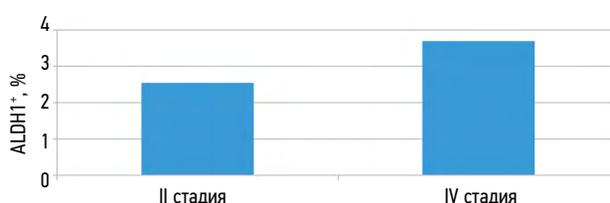


Рис. 3. Экспрессия ALDH1 при различных стадиях КРП ($p = 0,028$)

Fig. 3. Expression of ALDH1 at various stages of colorectal cancer ($p = 0.028$)

Таблица 2. Показатели опухолевого дифферона у пациентов обеих групп, %
Table 2. Tumor indicators in patients of both groups, %

Клеточный пул	1-я группа			2-я группа		
	Медиана	Мин. значения	Макс. значения	Медиана	Мин. значения	Макс. значения
ALDH1 ⁺ Ki-67 ⁺	0,3	0	2,7	1,4	0,1	4,9
ALDH1 ⁺ Ki-67 ⁻	1,9	0,2	6	2	0	7,2
ALDH1 ⁻ Ki-67 ⁺	37,3	10,7	61,7	40	24,1	51,8
ALDH1 ⁻ Ki-67 ⁻	63	36,3	88,6	53,7	45,1	72,9

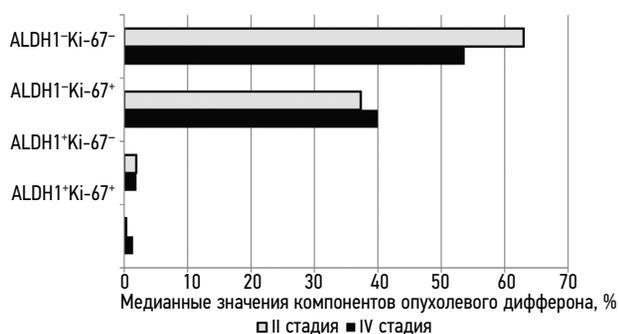


Рис. 4. Структура компонентов опухолевого дифферона при различных стадиях КРП

Fig. 4. Structure of tumor components at various stages of colorectal cancer

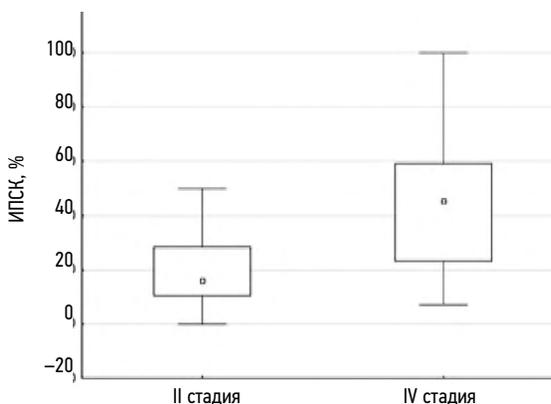


Рис. 5. ИПСК при различных стадиях КРП

Fig. 5. Stem cell proliferation index at various stages of colorectal cancer

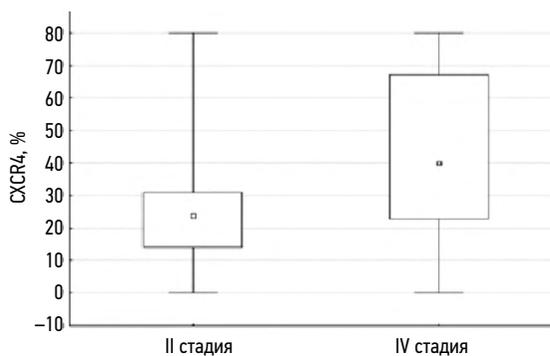


Рис. 6. Экспрессия CXCR4 при различных стадиях КРП

Fig. 6. Expression of CXCR4 at various stages of colorectal cancer

пришлась на клетки-прогениторы (ALDH1⁻Ki-67⁺). Самыми малочисленными популяциями стали стволовые непролиферирующие и пролиферирующие клетки. Значения компонентов опухолевого дифферона в зависимости от стадии опухолевого процесса представлены в таблице 2.

При сопоставлении четырех представленных выше популяций опухолевых клеток было выявлено, что в группе пациентов, страдающих метастатической формой КРП, число стволовых пролиферирующих клеток было статистически значимо выше, чем в группе пациентов, страдающих локализованной формой аденокарциномы толстой кишки ($p = 0,0002$). По остальным клеточным популяциям различия не достигли статистической значимости (рис. 4).

Для более точной оценки пролиферативных свойств СОК, учитывая малочисленность их популяции, удельный вес делящихся клеток определялся относительно общего числа стволовых клеток. С этой целью было введено понятие индекса пролиферации стволовых клеток (ИПСК), который рассчитывался как отношение количества стволовых пролиферирующих клеток (ALDH1⁺Ki-67⁺) к общему количеству стволовых (ALDH1⁺), выраженному в процентах. Установлено, что медиана ИПСК в группе больных локализованным КРП равнялась 16 %. Вместе с тем ни у одного пациента, страдающего II стадией заболевания, уровень пролиферации стволовых клеток не превышал 50 %, а значение ИПСК варьировало от 0 до 50 %. Медиана ИПСК в группе пациентов, страдающих метастатическим КРП, равнялась 45,5 %, а значения данного показателя варьировали от 7 до 100 %. При этом ИПСК у них был достоверно ($p = 0,00001$) выше, чем в группе больных, страдающих локализованным опухолевым процессом (рис. 5).

При оценке стволовых клеток опухоли с позиции их метастатического потенциала медиана числа CXCR4⁺-клеток в 1-й группе составила 24 %, во 2-й группе — 40 % ($p = 0,005$). При этом удельный вес положительно окрашенных клеток варьировал от 0 до 80 % в обеих группах (рис. 6).

Важная закономерность была прослежена при сопоставлении ИПСК и уровня экспрессии рецептора к хемокинам CXCR4: наблюдалась прямая связь между данными показателями как в группе пациентов, страдающих локализованным ($r = 0,584$, $p = 0,0005$), так и в группе больных, страдающих метастатическим КРП ($r = 0,640$, $p = 0,00003$), рисунки 7, 8.

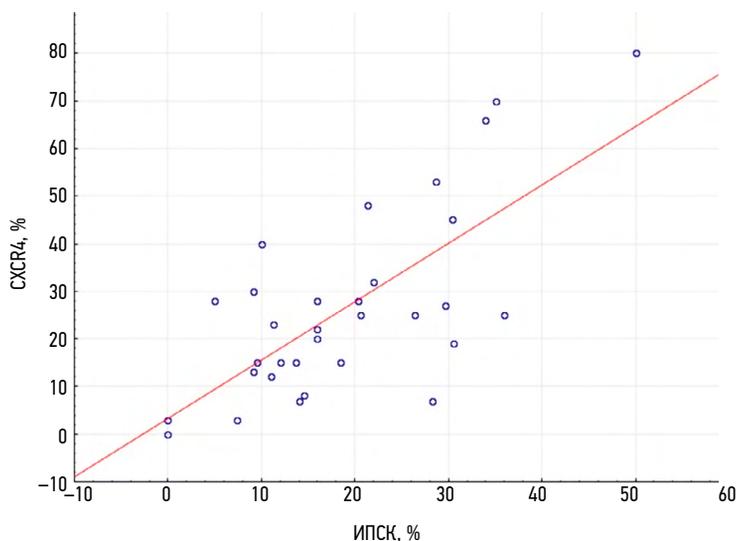


Рис. 7. Корреляция ИПСК с показателем потенциала метастазирования CXCR4 у пациентов, страдающих II стадией КРР

Fig. 7. Correlation of the stem cell proliferation index with the index of CXCR4 metastasis potential in patients with stage II colorectal cancer

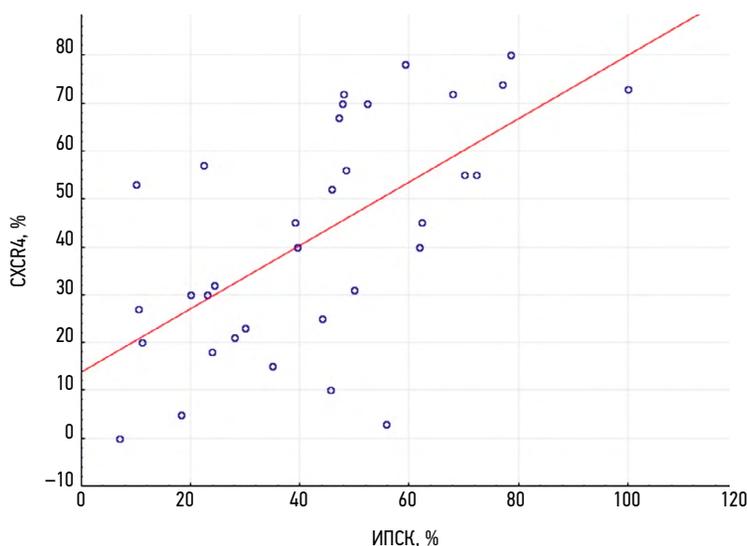


Рис. 8. Корреляция ИПСК с показателем потенциала метастазирования CXCR4 у пациентов, страдающих IV стадией КРР

Fig. 8. Correlation of the stem cell proliferation index with the index of CXCR4 metastasis potential in patients with stage IV colorectal cancer

Таким образом, выявлена прямая связь между экспрессией стволовых клеточных маркеров и распространенностью неопластического процесса при различных стадиях КРР. Полученные данные подтверждают исключительно важную роль СОК в прогрессировании аденокарциномы толстой кишки, что согласуется с современной концепцией канцерогенеза [8–10]. Кроме того, проведенный статистический анализ продемонстрировал, что экспрессия рецепторов к хемокинам CXCR4 коррелирует с распространенностью опухолевого процесса и может отражать потенциал ее метастазирования.

Анализ структуры опухолевого дифферона продемонстрировал, что удельный вес СОК относительно всего опухолевого клона крайне мал, что согласуется с данными

немногочисленных исследований, проведенных другими авторами [7, 3]. В связи с этим для оценки их пролиферативной активности целесообразно использовать понятие ИПСК, который рассчитывается как доля пролиферирующих клеток относительно стволовых клеточной популяции. Результаты проведенного статистического анализа продемонстрировали наличие прямой связи между экспрессией CXCR4 и величиной ИПСК, что свидетельствует об общности данных показателей в отношении стволовых клеточного пула и его пролиферативной активности с позиции молекулярно-биологических свойств опухоли. Данные закономерности указывают на целесообразность использования этих маркеров для комплексной оценки потенциала агрессивности аденокарциномы толстой

кишки. В нашем исследовании не выявлено связи индекса общей пролиферативной активности Ki-67 со стадией КРР, что согласуется с мнением А.А. Ерохиной, В.С. Чирского, Н.А. Майстренко и др. [2], Г.А. Раскина [3] о малой диагностической ценности изолированного определения этого маркера и противоречивыми данными о его влиянии на прогноз заболевания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что пролиферативная активность СОК и уровень экспрессии рецепторов к хемокинам CXCR4 являются важными маркерами, характеризующими

молекулярно-биологические свойства новообразования, которые коррелируют со степенью распространенности неопластического процесса. В связи с этим целесообразно включение ИГХ исследования данных маркеров в программу морфологической диагностики аденокарциномы толстой кишки для уточнения потенциала ее агрессивности и более обоснованного подхода к выбору лечебной тактики. Для более детальной характеристики пролиферативной активности СОК, учитывая их малочисленность, целесообразно определение ИПСК, который подразумевает определение удельного веса пролиферирующих клеток только внутри популяции стволовых клеток, а не относительно всего клеточного пула опухоли.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Huyna S., Ferlay J., Siegel R., et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 cancers in 185 countries // *CA: A Cancer J Clin.* 2021. Vol. 71, No. 3. P. 209–249. DOI: 10.3322/caac.21660
2. Ерохина А.А., Чирский В.С., Майстренко Н.А., и др. Пролиферативная активность раковых стволовых клеток в прогнозе гематогенного метастазирования аденокарциномы толстой кишки // *Гены и клетки.* 2022. Т. 17, № 2. С. 40–46. DOI: 10.23868/202209006
3. Раскин Г.А. Клинико-морфологическая оценка прогностических и предиктивных факторов при аденокарциноме толстой кишки: дис. ... д-ра мед. наук. Санкт-Петербург, 2014. 246 с.
4. Майстренко Н.А., Чирский В.С., Сазонов А.А., Ерохина А.А. Комплексный подход в обосновании хирургической тактики при местно-распространенных формах колоректального рака у пациентов старших возрастных групп // *Вестник хирургии им. И.И. Грекова.* 2019. Т. 178, № 2. С. 38–45. DOI: 10.24884/0042-4625-2019-178-2-38-45
5. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). Москва: МНИОИ им. П.А. Герцена; филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2019. 15 с.
6. Майстренко Н.А., Манихас Г.М., Сазонов А.А., и др. Влияние возрастного фактора и иммунофенотипа опухоли на эффективность циторедуктивных операций при метастатическом раке толстой кишки // *Вопросы онкологии.* 2019. Т. 65, № 6. С. 855–862.
7. Munro M.J., Wickremesekera S.K., Peng L., et al. Cancer stem cells in colorectal cancer: a review // *J Clin Pathol.* 2018. Vol. 71, No. 2. P. 110–116. DOI: 10.1136/jclinpath-2017-204739
8. Fanali C., Lucchetti D., Farina M., et al. Cancer stem cells in colorectal cancer from pathogenesis to therapy: controversies and perspectives // *World J Gastroenterol.* 2014. Vol. 20, No. 4. P. 923–942. DOI: 10.3748/wjg.v20.i4.923
9. Walcher L., Kistenmacher A.-K., Suo H., et al. Cancer stem cells—origins and biomarkers: perspectives for targeted personalized therapies // *Front Immunol.* 2020. Vol. 11. ID 1280. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01280
10. Нефедова Н.А., Мальков П.Г. Роль стволовых клеток в канцерогенезе толстой кишки // *Тазовая хирургия и онкология.* 2015. Т. 5, № 3. С. 15–24. DOI: 10.17650/2220-3478-2015-5-3-15-24
11. Москалев А.В., Гумилевский Б.Ю., Апчел А.В., Цыган В.Н. Стволовые клетки и их физиологические эффекты // *Вестник Российской военно-медицинской академии.* 2019. № 4. С. 172–180.
12. Ершов В.А. Морфогенез цервикальной неоплазии, ассоциированной с вирусами папилломы человека высокого канцерогенного риска: дис. ... д-ра мед. наук. Санкт-Петербург, 2020. 342 с.
13. Rezaee M., Gheytañchi E., Madjd Z., Mehrzama M. Clinicopathological significance of tumor stem cell markers ALDH1 and CD133 in colorectal carcinoma // *Iran J Pathol.* 2021. Vol. 16, No. 1. P. 40–50. DOI: 10.30699/ijp.2020.127441.2389
14. Holah N.S., Aiad H.A., Asaad N.Y., et al. Evaluation of the role of ALDH1 as cancer stem cell marker in colorectal carcinoma: an immunohistochemical study // *J Clin Diagn Res.* 2017. Vol. 11, No. 1. P. 17–23.
15. Mohammed S.Y., Kaf R.M., Ahmed M.M., et al. The prognostic value of cancer stem cell markers (Notch1, ALDH1, and CD44) in primary colorectal carcinoma // *J Gastrointest Cancer.* 2019. Vol. 50, No. 4. P. 824–837. DOI: 10.1007/s12029-018-0156-6
16. Ginestier C., Hur M.H., Charafe-Jauffret E., et al. ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome // *Cell Stem Cell.* 2007. Vol. 1, No. 5. P. 555–567. DOI: 10.1016/j.stem.2007.08.014
17. Филина А.Б. Роль факторов врожденного иммунитета в процессе опухолеобразования: дис. ... канд. мед. наук. Москва, 2019. 108 с.
18. Khare T., Bissonnette M., Khare S. CXCL12-CXCR4/CXCR7 Axis in colorectal cancer: therapeutic target in preclinical and clinical studies // *Int J Mol Sci.* 2021. Vol. 22, No. 14. ID 147371. DOI: 10.3390/ijms22147371
19. Goita A.A., Guenot D. Colorectal Cancer: The contribution of CXCL12 and its receptors CXCR4 and CXCR7 // *Cancers (Basel).* 2022. Vol. 14, No. 7. ID 1810. DOI: 10.3390/cancers14071810

20. Иванова А.К. Оптимизация тактики адъювантной химиотерапии у больных раком ободочной кишки с учетом клинико-морфологических характеристик: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Санкт-Петербург, 2022. 23 с.

21. Fedyanin M., Popova A., Polyanskaya E., Tjulandin S. Role of stem cells in colorectal cancer progression and prognostic and predictive characteristics of stem cell markers in colorectal

cancer // *Curr Stem Cell Res Ther*. 2017. Vol. 12, No. 1. P. 19–30. DOI: 10.2174/1574888X11666160905092938

22. Andrade F., Rafael D., Vilar-Hernández M., et al. Polymeric micelles targeted against CD44v6 receptor increase niclosamide efficacy against colorectal cancer stem cells and reduce circulating tumor cells in vivo // *J Control Release*. 2021. Vol. 331. P. 198–212. DOI: 10.1016/j.jconrel.2021.01.022

REFERENCES

- Hyuna S, Ferlay J, Siegel R, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer J Clin*. 2021;71(3):209–249. DOI: 10.3322/caac.21660
- Erokhina AA, Chirsky VS, Maistrenko NA, et al. Proliferative activity of cancer stem cells in the prognosis of hematogenous metastasis of colon adenocarcinoma. *Genes and Cells*. 2022;17(2):40–46. (In Russ.). DOI: 10.23868/202209006
- Raskin GA. *Kliniko-morfologicheskaya otsenka prognosticheskikh i prediktivnykh faktorov pri adenokartsinome tolstoy kishki* [dissertation]. Saint Petersburg; 2014. 246 p. (In Russ.)
- Maistrenko NA, Chirsky VS, Sazonov AA, Erokhina AA. Comprehensive approach to choosing surgical tactics for locally advanced forms of colorectal cancer in patients of older age groups. *Grekov's Bulletin of Surgery*. 2019;178(2):38–45. (In Russ.). DOI: 10.24884/0042-4625-2019-178-2-38-45
- Kaprin AD, Starinskii VV, Petrova GV. *Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2018 godu (zabolevaemost' i smertnost')*. Moscow: MNIOL im. P.A. Gertsena; filial FGBU «NMITS radiologil» Minzdrava Rossii; 2019. 15 p. (In Russ.)
- Maistrenko NA, Manikhas GM, Sazonov AA, et al. Influence of the age factor and tumor immunophenotype on the effectiveness of cytoreductive operations in metastatic colorectal cancer. *Problems in oncology*. 2019;65(6):855–862. (In Russ.)
- Munro MJ, Wickremesekera SK, Peng L, et al. Cancer stem cells in colorectal cancer: a review. *J Clin Pathol*. 2018;71(2):110–116. DOI: 10.1136/jclinpath-2017-204739
- Fanali C, Lucchetti D, Farina M, et al. Cancer stem cells in colorectal cancer from pathogenesis to therapy: controversies and perspectives. *World J Gastroenterol*. 2014;20(4):923–942. DOI: 10.3748/wjg.v20.i4.923
- Walcher L, Kistenmacher A-K, Suo H, et al. Cancer stem cells—origins and biomarkers: perspectives for targeted personalized therapies. *Front Immunol*. 2020;11:1280. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01280
- Nefedova NA, Mal'kov PG. Role of stem cells in large bowel carcinogenesis. *Pelvic Surgery and Oncology*. 2015;5(3):15–24. (In Russ.). DOI: 10.17650/2220-3478-2015-5-3-15-24
- Moskalev AV, Gumilevskiy BYu, Apchel AV, Tsygan VN. Stem cells and their physiological effects. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2019;(4):172–180. (In Russ.)
- Ershov VA. *Morfogenez tservikal'noi neoplazii, assotsirovannoi s virusami papillomy cheloveka vysokogo kantserogennoho riska* [dissertation]. Saint Petersburg; 2020. 342 p. (In Russ.)
- Rezaee M, Gheytanchi E, Madjd Z, Mehrazma M. Clinicopathological significance of tumor stem cell markers ALDH1 and CD133 in colorectal carcinoma. *Iran J Pathol*. 2021;16(1):40–50. DOI: 10.30699/ijp.2020.127441.2389
- Holah NS, Aiad HA, Asaad NY, et al. Evaluation of the role of ALDH1 as cancer stem cell marker in colorectal carcinoma: an immunohistochemical study. *J Clin Diagn Res*. 2017;11(1):17–23.
- Mohammed SY, Kaf RM, Ahmed MM, et al. The prognostic value of cancer stem cell markers (Notch1, ALDH1, and CD44) in primary colorectal carcinoma. *J Gastrointest Cancer*. 2019;50(4):824–837. DOI: 10.1007/s12029-018-0156-6
- Ginestier C, Hur MH, Charafe-Jauffret E, et al. ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome. *Cell Stem Cell*. 2007;1(5):555–567. DOI: 10.1016/j.stem.2007.08.014
- Filina AB. *Rol' faktorov vrozhdennogo immuniteta v protsesse opukholeobrazovaniya* [dissertation]. Moscow; 2019. 108 p. (In Russ.)
- Khare T, Bissonnette M, Khare S. CXCL12-CXCR4/CXCR7 Axis in colorectal cancer: therapeutic target in preclinical and clinical studies. *Int J Mol Sci*. 2021;22(14):147371. DOI: 10.3390/ijms22147371
- Goïta AA, Guenot D. Colorectal Cancer: The contribution of CXCL12 and its receptors CXCR4 and CXCR7. *Cancers (Basel)*. 2022;14(7):1810. DOI: 10.3390/cancers14071810
- Ivanova AK. *Optimizatsiya taktiki ad'yuvantnoi khimioterapii u bol'nykh rakom obodochnoi kishki s uchetom kliniko-morfologicheskikh kharakteristik* [dissertation abstract]. Saint Petersburg, 2022. 23 p. (In Russ.)
- Fedyanin M, Popova A, Polyanskaya E, Tjulandin S. Role of stem cells in colorectal cancer progression and prognostic and predictive characteristics of stem cell markers in colorectal cancer. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2017;12(1):19–30. DOI: 10.2174/1574888X11666160905092938
- Andrade F, Rafael D, Vilar-Hernández M, et al. Polymeric micelles targeted against CD44v6 receptor increase niclosamide efficacy against colorectal cancer stem cells and reduce circulating tumor cells in vivo. *J Control Release*. 2021;331:198–212. DOI: 10.1016/j.jconrel.2021.01.022

ОБ АВТОРАХ

***Алина Артуровна Ерохина**, врач-патологоанатом;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7343-5089>;
eLibrary SPIN: 1768-8760; e-mail: lokitrikster@yandex.ru

Николай Анатольевич Майстренко, д-р мед. наук, профессор;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1405-7660>;
eLibrary SPIN: 2571-9603; e-mail: nik.m.47@mail.ru

Вадим Семенович Чирский, д-р мед. наук, профессор;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3215-3901>;
eLibrary SPIN: 7295-3369; e-mail: v_chirsky@mail.ru

Алексей Андреевич Сазонов, д-р мед. наук;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4726-7557>;
eLibrary SPIN: 4042-7710; e-mail: sazonov_alex_doc@mail.ru

AUTHORS INFO

***Alina A. Erokhina**, pathologist;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7343-5089>;
eLibrary SPIN: 1768-8760; e-mail: lokitrikster@yandex.ru

Nikolay A. Maistrenko, MD, Dr. Sci. (Med.), professor;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1405-7660>;
eLibrary SPIN: 2571-9603; e-mail: nik.m.47@mail.ru

Vadim S. Chirsky, MD, Dr. Sci. (Med.), professor;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3215-3901>;
eLibrary SPIN: 7295-3369; e-mail: v_chirsky@mail.ru

Alexey A. Sazonov, MD, Dr. Sci. (Med.);
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4726-7557>;
eLibrary SPIN: 4042-7710; e-mail: sazonov_alex_doc@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author