

ISSN 2313-7347 (print)

ISSN 2500-3194 (online)

АКУШЕРСТВО ГИНЕКОЛОГИЯ РЕПРОДУКЦИЯ

Включен в перечень ведущих
рецензируемых журналов и изданий ВАК

2023 • том 17 • № 4

OBSTETRICS, GYNECOLOGY AND REPRODUCTION

2023 Vol. 17 No 4

www.gynecology.ru

Данная интернет-версия статьи была скачана с сайта <http://www.gynecology.ru>. Не предназначено для использования в коммерческих целях. Информацию о репринтах можно получить в редакции. Тел.: +7 (495) 504-54-55; эл. почта: info@jgibis-1.ru.



Маркеры внеклеточных ловушек нейтрофилов у женщин со злокачественными новообразованиями репродуктивной системы, получавших хирургическое лечение и адъювантную терапию

Е.В. Слуханчук¹, В.О. Бицадзе¹, А.Г. Солопова¹, Д.Х. Хизроева¹, Ж.-К. Гри^{1,2},
И. Элалами^{1,3,4}, Н.Д. Дегтярева¹, М.А. Гилева¹, Н.В. Самбунова¹,
Д.В. Щербаков¹, Ф.Э. Якубова¹, М.Е. Зелепухина¹,
Д.В. Блинов^{1,5,6}, А.Д. Макацария¹

¹ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет);
Россия, 119991 Москва, ул. Большая Пироговская, д. 2, стр. 4;

²Университет Монпелье; Франция, 34090 Монпелье, ул. Огюста Бруссоне, д. 163;

³Медицинский Университет Сорбонны; Франция, 75006 Париж, Улица медицинского факультета, д. 12;

⁴Госпиталь Тенон; Франция, 75020 Париж, Китайская улица, д. 4;

⁵Институт Превентивной и Социальной Медицины; Россия, 127006 Москва, ул. Садовая-Триумфальная, д. 4–10;

⁶АНО ДПО «Московский медико-социальный институт имени Ф.П. Газа»;
Россия, 123056 Москва, 2-я Брестская ул., д. 5, с. 1–1а

Для контактов: Екатерина Викторовна Слуханчук, e-mail: ekaterina@ginekologhirurg.ru

Резюме

Введение. Исследования свидетельствуют о связи между повышением концентрации внеклеточной ДНК (вкДНК) и химиотерапией, при этом большинство из них сосредоточены на опухоли как источнике вкДНК. Повышенная концентрация вкДНК, наблюдаемая у пациентов на фоне химиотерапии, может быть связана с нетозом, так как вкДНК при раке по своим характеристикам сходна с внеклеточными ловушками нейтрофилов (англ. neutrophil extracellular traps, NETs).

Цель: оценка маркеров нетоза при хирургическом лечении и адъювантной химиотерапии пациенток со злокачественными новообразованиями женской репродуктивной системы.

Материалы и методы. В проспективном нерандомизированном интервенционном контролируемом исследовании приняли участие 111 пациенток со злокачественными заболеваниями молочных желез и женских половых органов различных локализаций и стадий, госпитализированных с целью проведения планового оперативного лечения или курса химиотерапии. В контрольную группу вошли 33 здоровые женщины. Оперативному лечению подверглись 69 пациенток. Адъювантная химиотерапия с паклитакселом и карбоплатином проведена 25 пациенткам подгруппы «рак яичников» и 17 пациенткам подгруппы «рак молочной железы». В качестве биомаркеров нетоза были выбраны цитруллинированный гистон H3 (англ. citrullinated histone H3, citH3) и миелопероксидаза (англ. myeloperoxidase, MPO). Эти маркеры отличают NETs от другой вкДНК, полученной из опухоли, что повышает информативность исследования. Концентрацию маркеров нетоза оценивали дважды – до операции или начала курса химиотерапии при поступлении пациенток в отделение и через 14 дней после операции или через 14 дней после второго курса химиотерапии.

Результаты. У всех пациенток концентрации маркеров нетоза до начала терапии были достоверно повышены по сравнению с контрольной группой ($p = 0,0001$), также как и через 14 дней после оперативного лечения ($p = 0,0001$) или после второго курса химиотерапии ($p = 0,0001$). Однако у прооперированных пациенток не было выявлено значимого повышения концентрации маркеров нетоза после операции по сравнению с дооперационными значениями. При этом у пациенток,

прошедших 2 курса химиотерапии, было установлено достоверное повышение маркеров нетоза по сравнению с исходными значениями.

Заключение. Проведенное исследование выявило взаимосвязь между использованием паклитаксел-содержащей химиотерапии и ростом концентрации NETs у пациенток подгрупп «рак яичников» и «рак молочной железы». Химиотерапия является важнейшим компонентом ведения пациентов со злокачественными новообразованиями женской репродуктивной системы, поэтому разработка новых стратегий для снижения риска тромбоза и резистентности к ней имеет жизненно важное значение.

Ключевые слова: рак, химиотерапия, внеклеточные ловушки нейтрофилов, NETs, тромбоз, резистентность к терапии

Для цитирования: Слуханчук Е.В., Бицадзе В.О., Солопова А.Г., Хизроева Д.Х., Гри Ж.-К., Элалами И., Дегтярева Н.Д., Гилева М.А., Самбунова Н.В., Щербаков Д.В., Якубова Ф.Э., Зелепухина М.Е., Блинов Д.В., Макацария А.Д. Маркеры внеклеточных ловушек нейтрофилов у женщин со злокачественными новообразованиями репродуктивной системы, получавших хирургическое лечение и адъювантную химиотерапию. *Акушерство, Гинекология и Репродукция*. 2023;17(4):420–432. <https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2023.432>.

Neutrophil extracellular traps-associated markers in malignant neoplasms of the female reproductive system after surgical treatment and adjuvant chemotherapy

Ekaterina V. Slukhanchuk¹, Viktoria O. Bitsadze¹, Antonina G. Solopova¹, Jamilya Kh. Khizroeva¹, Jean-Christophe Gris^{1,2}, Ismail Elalamy^{1,3,4}, Natalia D. Degtyareva¹, Maria A. Gileva¹, Natalia V. Samburova¹, Denis V. Shcherbakov¹, Fidan E. Yakubova¹, Maria E. Zelepukhina¹, Dmitry V. Blinov^{1,5,6}, Alexander D. Makatsariya¹

¹Sechenov University; 2 bldg. 4, Bolshaya Pirogovskaya Str., Moscow 119991, Russia;

²University of Montpellier; 163 Rue Auguste Broussonnet, Montpellier 34090, France;

³Medicine Sorbonne University; 12 Rue de l'École de Médecine, Paris 75006, France;

⁴Hospital Tenon; 4 Rue de la Chine, Paris 75020, France;

⁵Institute for Preventive and Social Medicine; 4–10 Sadovaya-Triumfalnaya Str., Moscow 127006, Russia;

⁶Moscow Haass Medical – Social Institute; 5 bldg. 1–1a, 2-ya Brestskaya Str., Moscow 123056, Russia

Corresponding author: Ekaterina V. Slukhanchuk, e-mail: ekaterina@ginekologhirurg.ru

Abstract

Introduction. Studies evidence about a relation between increased circulating free DNA (cfDNA) concentrations and chemotherapy, the majority of which have been focused on considering a tumor as a source of cfDNA. It has been suggested that neutrophils also contribute to this process, as cancer-related cfDNA characteristics resemble those of neutrophil extracellular traps (NETs). Therefore, the elevated concentration of cfDNA observed in chemotherapy patients may be associated with NETosis.

Aim: assessment of NETosis markers in surgical treatment and adjuvant chemotherapy of patients with malignant neoplasms of the female reproductive system.

Materials and Methods. A prospective non-randomized interventional controlled study was carried out by enrolling 111 patients with malignant breast diseases and female genital organs of various localizations and stages hospitalized for elective surgical treatment or chemotherapy course. The control group included 33 healthy women. 69 patients underwent surgical treatment. Adjuvant chemotherapy with paclitaxel and carboplatin was performed in 25 patients with ovarian cancer and 17 patients with breast cancer. In cancer patients, citrullinated histone H3 (citH3) and myeloperoxidase (MPO) were chosen as NETosis biomarkers allowing to distinguish NETs from other tumor-derived cfDNA thereby improving quality of research study. The concentration of NETosis markers was assessed before surgery or onset of chemotherapy upon admission to hospital and 14 days after surgery or 14 days after the second course of chemotherapy.

Results. In all patients, the concentrations of NETosis markers before the start of therapy were significantly increased compared to the control group as well as 14 days after surgical treatment and 14 days after the second course of chemotherapy. However, in surgical patients, no significantly increased concentration of NETosis markers post- vs. pre-surgery magnitude was observed. Upon that, patients underwent 2 courses of chemotherapy vs. baseline level were found to have significantly elevated magnitude of NETosis markers.

Conclusion. The study revealed the relationship between administration of paclitaxel-containing chemotherapy in patients with ovarian cancer and breast cancer and a rise in NETs level. Chemotherapy is an essential component for management of patients

Маркеры внеклеточных ловушек нейтрофилов у женщин со злокачественными новообразованиями репродуктивной системы, получавших хирургическое лечение и адъювантную терапию

with malignant neoplasms of the female reproductive system, therefore, development of new strategies to lower a risk of thrombosis and resistance to it is of crucial importance.

Keywords: cancer, chemotherapy, neutrophil extracellular traps, NETs, thrombosis, resistance to therapy

For citation: Slukhanchuk E.V., Bitsadze V.O., Solopova A.G., Khizroeva J.Kh., Gris J.-K., Elalamy I., Degtyareva N.D., Gileva M.A., Samburova N.V., Shcherbakov D.V., Yakubova F.E., Zelepukhina M.E., Blinov D.V., Makatsariya A.D. Neutrophil extracellular traps-associated markers in malignant neoplasms of the female reproductive system after surgical treatment and adjuvant chemotherapy. *Akusherstvo, Ginekologia i Reprodukcia = Obstetrics, Gynecology and Reproduction*. 2023;17(4):420–432. (In Russ.). <https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2023.432>.

Основные моменты

Что уже известно об этой теме?

- ▶ Циркулирующая внеклеточная ДНК у онкологических пациентов при повышенных ее концентрациях снижает эффективность проводимой химиотерапии.
- ▶ Источником внеклеточной ДНК у онкологических пациентов принято считать саму опухоль.

Что нового дает статья?

- ▶ Представлены результаты обследования пациенток со злокачественными заболеваниями женской репродуктивной системы, которые показывают, что значительный вклад в циркуляцию внеклеточной ДНК при раке вносит нетоз.

Как это может повлиять на клиническую практику в обозримом будущем?

- ▶ Внеклеточные ловушки нейтрофилов (NETs) потенциально могут выступать новыми мишенями для разрабатываемой терапии, которая позволит улучшить исходы и прогноз у онкологических пациентов.

Highlights

What is already known about this subject?

- ▶ Elevated concentrations of circulating extracellular DNA in cancer patients reduces the effectiveness of ongoing chemotherapy.
- ▶ The source of extracellular DNA in cancer patients is considered to be tumor-derived.

What are the new findings?

- ▶ The paper presents the data of examining patients with malignant diseases of the female reproductive systems showing that NETosis prominently contribute to the circulation of extracellular DNA in cancer.

How might it impact on clinical practice in the foreseeable future?

- ▶ Neutrophil extracellular traps (NETs) may be potentially considered a new targets for emerging therapies that could improve outcomes and prognosis in cancer patients.

Введение / Introduction

Тромбоз на фоне химиотерапии является частым осложнением у онкологических больных. Риск тромботических осложнений при этом в 5–7 раз повышен по сравнению со здоровыми людьми. Частота тромбоза зависит от стадии заболевания и используемых химиотерапевтических препаратов. О связи между раком, химиотерапией и тромбозом известно давно, однако молекулярные механизмы, с помощью которых химиотерапевтические агенты способствуют тромбозу, до конца не изучены. Потенциальные механизмы, с помощью которых химиотерапия способствует гиперкоагуляции, включают повышение прокоагулянтной активности тканевого фактора, активацию тромбоцитов [1], повышение концентраций фосфатидилсерина, микрочастиц [2] и внеклеточной ДНК (вкДНК) [3].

В большинстве исследований циркулирующая ДНК изучалась в контексте скрининга рака, опухолевой нагрузки и оценки метастазирования; количественные изменения использовались для улучшения диагностики и мониторинга ответа на противоопухолевую терапию [4]. При раке легкого концентрация ДНК в плазме повышена по сравнению со здоровыми людьми и еще больше повышена после химиотерапии [5]. В недавно проведенных исследованиях было продемонстрировано, что химиотерапия может увеличить количество циркулирующей ДНК у онкологи-

ческих больных с последующей гиперкоагуляцией [6].

Исследования, изучающие связь между противоопухолевой терапией и циркулирующими внеклеточными ловушками нейтрофилов (англ. neutrophil extracellular traps, NETs), остаются скудными. Некоторые исследования свидетельствуют о связи между повышением концентрации вкДНК и устойчивостью к химиотерапии. Источником вкДНК при этом могут быть нейтрофилы. Ранее концентрация вкДНК предлагалась для прогнозирования прогрессирования рака и терапевтического эффекта [7]. S. Holdenrieder с соавт. изучали содержание циркулирующей ДНК и гистонов в качестве биомаркеров ответа на химиотерапию у пациентов с диагнозом немелкоклеточного рака легкого III или IV стадии. Их исследование показало, что хороший ответ на терапию коррелировал с более низкими концентрациями компонентов NETs [8].

Большинство исследований сосредоточены на опухоли как доминирующем источнике вкДНК. Недавно выдвинуто предположение о том, что нейтрофилы также вносят свой вклад в рост концентрации вкДНК [7]. Исследования показали, что вкДНК при раке по своим характеристикам сходна с NETs [9]. Следовательно, повышенная концентрация вкДНК, наблюдаемая у пациентов с резистентностью к лечению, может быть частично связана с нетозом.

Воспаление признано ключевым компонентом патофизиологии рака [10]. Оркестр из иммунных клеток участвует в инвазии, росте и распространении клеток

опухоли [11]. В прогрессии опухоли и метастазировании нейтрофилы принимают активное участие, что дает возможность рассматривать их и их производные (NETs) как потенциальные терапевтические мишени [12]. После открытия NETs оказалось, что их роль более сложна, чем первоначально предполагалось [13]. В процессе синтеза NETs, называемым нетозом, нейтрофилы вытесняют сети деконденсированного хроматина, украшенного гистонами [7]. Опухолевая ткань выделяет гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (англ. granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF), запускающий нетоз (рис. 1) [6]. Классический суицидальный нетоз завершается лизисом нейтрофила. Существует и другой, нелигический, витальный нетоз [14]. В составе NETs участвуют различные гистоны, способствующие прогрессии рака и резистентности к терапии [15], такие как эластаза, катепсин G (англ. cathepsin G, CG) и матриксная металлопротеиназа-9 (англ. matrix metalloproteinase-9, MMP-9) [16].

В исследованиях было показано, что химиотерапевтические препараты рака молочной железы индуцируют образование NETs. Для их формирования требуется продукция активных форм кислорода (АФК), поскольку у пациентов с мутациями NADPH-оксидазы, которые нарушают выработку АФК, не образуются сети [17].

Опухоль-ассоциированные нейтрофилы (ОАН) являются важными компонентами микроокружения

опухоли, которое в формировании резистентности к противоопухолевой терапии играет центральную роль [18]. Нейтрофилы продуцируют цитокины и хемокины, способствующие выживанию опухолевых клеток, подавляя тем самым ответ на терапию [19]. Данное утверждение подтверждают клинические данные, демонстрирующие лучший терапевтический ответ и прогноз у пациентов с легкой нейтропенией на фоне химиотерапии [20]. Подавление ОАН может улучшать ответ на химиотерапию независимо от других искажающих факторов. Связь между нейтропенией и хорошим прогнозом сначала рассматривалась как совпадение. В настоящее время считается, что нейтропения является маркером достаточной терапевтической дозы и свидетельствует о присутствии ОАН-зависимых механизмов резистентности [21]. Причастность нейтрофилов к формированию резистентности к терапии хорошо описана, в связи с чем вызывает интерес к нетозу как механизму резистентности [22].

В центре внимания нашего исследования находился эффект карбоплатина и паклитаксела на активность процессов нетоза. Нами была предпринята попытка показать, действительно ли данные химиотерапевтические препараты индуцируют высвобождение NETs у онкогинекологических пациенток. В качестве биомаркеров нетоза у онкогинекологических пациенток на фоне химиотерапии были выбраны

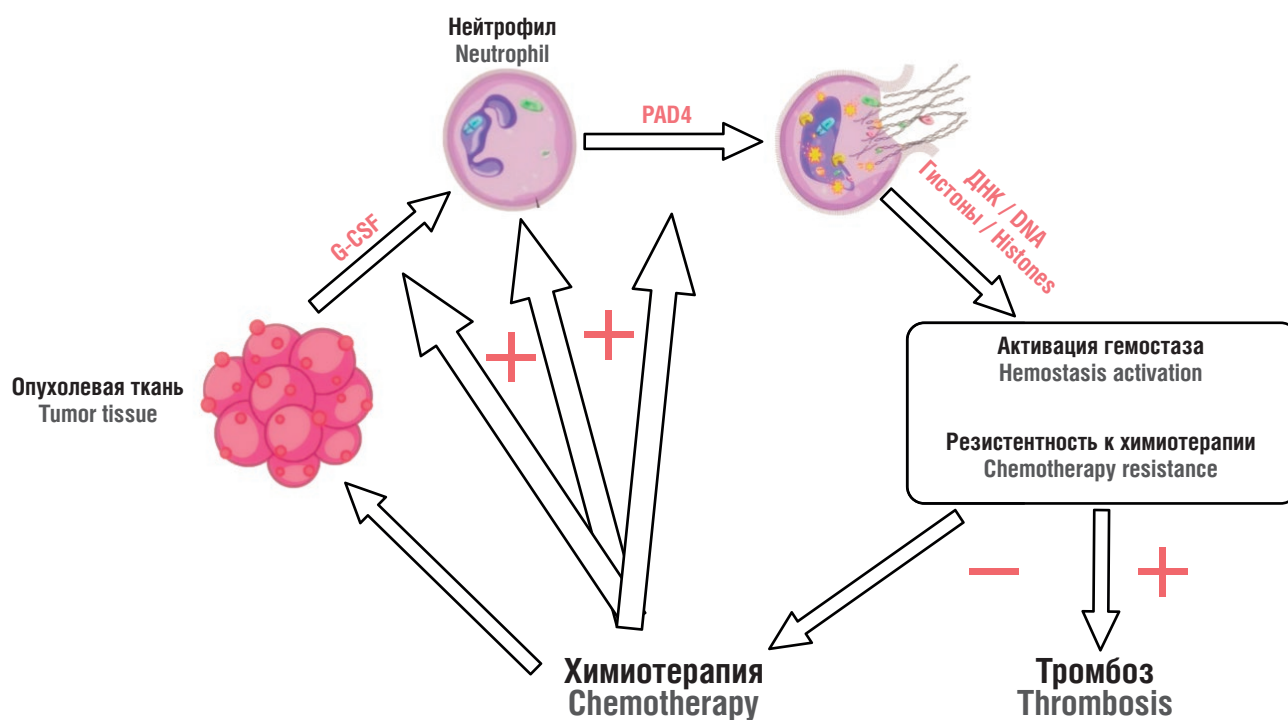


Рисунок 1. Химиотерапия и внеклеточные ловушки нейтрофилов (NETs) [рисунок авторов].

Примечание: PAD4 – пептидил-аргинин деиминаза 4; G-CSF – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор; «+» – активация и усиление процесса; «-» – подавление процесса, снижение эффекта.

Figure 1. Chemotherapy and neutrophil extracellular traps (NETs) [drawn by authors].

Note: PAD4 – peptidyl-arginine deiminase 4; G-CSF – granulocyte colony-stimulating factor; «+» – process activation and enhancement; «-» – process suppression, lowered effect.

цитруллинированный гистон H3 (англ. citrullinated histone H3, citH3) и миелопероксидаза (англ. myeloperoxidase, MPO). Эти маркеры отличают NETs от вкДНК, полученной из опухоли, что повышает информативность исследования.

Цель: оценка маркеров нетоза при хирургическом лечении и адъювантной химиотерапии пациенток со злокачественными новообразованиями женской репродуктивной системы.

Материалы и методы / Materials and Methods

Дизайн исследования / Study design

В проспективном нерандомизированном интервенционном контролируемом исследовании участвовали 144 женщины: 111 пациенток в возрасте от 34 лет до 72 лет, госпитализированных с целью проведения планового оперативного лечения или курса химиотерапии в Университетскую клиническую больницу № 4 Сеченовского Университета и ФГБНУ РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского (основная группа), и 33 условно здоровых сотрудниц баз проводимого исследования в возрасте от 32 до 68 лет, которые вошли в контрольную группу.

Критерии включения и исключения / Inclusion and exclusion criteria

Критерии включения (основная группа): возраст 18 лет и старше; диагноз при поступлении – злокачественные новообразования тела матки, яичников, молочных желез, шейки матки; согласие на исследование и подписание информированного добровольного согласия.

Критерии включения (контрольная группа): возраст 18 лет и старше; отсутствие воспалительных, онкологических заболеваний, тромбозов и тромбоэмболий; согласие на участие в исследовании и подписанное информированное добровольное согласие.

Критерии исключения (для обеих групп): возраст до 18 лет; на момент отбора образца плазмы активный инфекционно-воспалительный процесс; тяжелое течение и обострение сердечно-сосудистых заболеваний; декомпенсация сахарного диабета; обострение хронических заболеваний почек и печени; сопутствующие другие онкологические заболевания; тромбоэмболические осложнения, прием антикоагулянтов и антиагрегантов; коагулопатии и тромбоцитопатии; тромботический или геморрагический синдром; отказ от участия в исследовании.

Группы обследованных / Patients groups

Основную группу составили 111 пациенток со злокачественными заболеваниями женских половых органов и молочных желез на различных стадиях: рак тела матки (подгруппа 1; $n = 25$), рак яичников (под-

группа 2; $n = 36$), рак шейки матки – аденокарцинома цервикального канала (подгруппа 3; $n = 17$), рак молочной железы (подгруппа 4; $n = 33$). Контрольную группу составили 33 здоровые женщины.

Оперативному лечению подверглись 69 пациенток: 25 в подгруппе 1 (рак тела матки), 11 в подгруппе 2 (рак яичников), 17 в подгруппе 3 (рак шейки матки), 16 в подгруппе 4 (рак молочной железы).

Для проведения адъювантной химиотерапии госпитализировано 25 пациенток подгруппы 1 (рак тела матки) и 17 пациенток подгруппы 4 (рак молочной железы). Пациенткам с раком тела матки химиотерапия проводилась по схеме: паклитаксел 175 мг/м² внутривенно 3 часа в 1 день и карбоплатин АУС 6 внутривенно 1 час в 1 день 21-дневного курса. Женщинам из подгруппы «рак молочной железы» химиотерапия проводилась в различных режимах в зависимости от принадлежности опухоли к одному из молекулярно-биологических подтипов и стадии заболевания. В исследование были включены пациентки, в состав химиотерапии у которых входил паклитаксел.

Методы исследования / Study methods

Образцы плазмы у обследованных женщин получали путем венопункции: у онкогинекологических пациенток первый раз – до оперативного лечения, до профилактического назначения антикоагулянтов, до начала курса химиотерапии при поступлении пациентки в отделение, второй раз – через 14 дней после операции или через 14 дней после второго курса химиотерапии и хранили после центрифугирования при температуре -80°C . Отбор крови натошак сухой стерильной иглой из локтевой вены производили в пластиковую пробирку с антикоагулянтом – 3,8 % трехзамещенным цитратом натрия в соотношении 9:1. У женщин контрольной группы образцы плазмы отбирали однократно в момент профилактического ежегодного осмотра.

Определение маркеров нетоза / Assessing NETosis markers

Набор для иммуноферментного анализа (ИФА) MPO, Human, ELISA kit (Hycult Biotech, Нидерланды) использовали для определения концентрации в плазме крови антигена миелопероксидазы человека (МПО:Ag). Нормальный референтный уровень МПО:Ag составляет $2,56 \pm 0,33$ нг/мл. С помощью набора для ИФА Citrullinated Histone H3 ELISA Kit (Cayman Chemical, AnnArbor, США) проводили определение в плазме крови citH3.

Этические аспекты / Ethical aspects

В исследовании были соблюдены требования Хельсинской декларации. После получения исчерпывающей информации участницы исследования подписали информированное согласие. Исследование

одобрено этическим комитетом Сеченовского Университета, протокол № 03-23 от 16.02.2023.

Статистический анализ / Statistical analysis

Обработка данных осуществлялась с использованием программного обеспечения Statistica 7.0 (StatSoft, Inc. США).

Для возраста и лабораторных показателей статистический анализ включал в себя расчёт описательных статистик: минимального и максимального значений, средней (M), среднеквадратического отклонения (SD).

Для оценки нормальности распределения применялся тест Харке–Бера (Jarque–Beratest). На уровне значимости $p \leq 0,05$ нулевая гипотеза H_0 о том, что остатки значений рассматриваемых показателей групп участников имеют нормальное распределение, отклонялась.

Сравнение значений показателей между группами и непараметрическая оценка проведена при помощи критерия Манна–Уитни для несвязанных выборок (Mann–Whitney U-test). Нами была сформулирована нулевая гипотеза H_0 как отсутствие различий между группами пациенток. Во всех случаях H_0 отклонялась при уровнях значимости $p \leq 0,05$.

Сравнение значений показателей и непараметрическая оценка между группами пациенток до и после операции и до и после проведения химиотерапии проведена с использованием критерия Вилкоксона для связанных выборок (Wilcoxon Matched Pairs Test). Нами была сформулирована нулевая гипотеза H_0 как отсутствие различий между пациентками до и после соответствующего метода лечения. Во всех случаях H_0 отклонялась при уровнях значимости $p \leq 0,01$.

Результаты / Results

Значимых возрастных различий между группами не было. У всех онкогинекологических пациенток на момент поступления в стационар концентрации маркеров нетоза (citH3 и МПО:Аг) были повышены и достоверно отличались от контрольной группы (табл. 1).

В таблицах 2 и 3 показаны достоверно повышенные концентрации маркеров нетоза у прооперированных пациенток через 14 дней после операции и у пациенток, прошедших 2 курса химиотерапии, при сравнении с контрольной группой.

Далее проведено сравнение концентраций маркеров нетоза у пациенток, прошедших оперативное лечение, до и после вмешательства, а также концентраций маркеров нетоза у пациенток, госпитализированных для проведения химиотерапии до и после 2 курсов химиотерапии. У прооперированных пациенток значимых различий показателей до и после операции выявлено не было (табл. 4). При этом в группе химиотерапии установлено достоверное повышение концентраций маркеров нетоза через 14 дней после второго курса химиотерапии (табл. 5).

Обсуждение / Discussion

Результаты проведенного исследования в очередной раз демонстрируют провоспалительный статус онкологических пациенток. Полученные данные до начала терапии выявили во всех подгруппах повышенные показатели маркеров нетоза.

Ряд стимулов может запускать процесс образования NETs. Стимуляция нейтрофилов различными

Таблица 1. Содержание маркеров нетоза (citH3 и МПО:Аг) у онкогинекологических пациенток до начала терапии по сравнению с контрольной группой.

Table 1. NETosis markers (citH3 and MPO:Ag) level in female cancer patients before onset of therapy compared with control group.

Показатель Parameter	Подгруппы онкогинекологических пациенток Subgroups of female cancer patients n = 111				Контроль- ная группа Control group n = 33	Значимость отличий (p) онкогинекологических подгрупп от контрольной группы Significance of difference (p) between female cancer subgroups and control group			
	1 n = 25	2 n = 36	3 n = 17	4 n = 33		1	2	3	4
Концентрация citH3 до начала терапии, нг/мл, M ± SD citH3 level before therapy, ng/ml, M ± SD min–max	2,72 ± 0,60 1,1–3,5	1,72 ± 0,76 1,0–3,5	2,54 ± 0,64 0,93–2,5	0,69 ± 0,52 0,05–2,10	0,33 ± 0,13 0,14–0,6	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
Концентрация МПО:Аг до начала терапии, нг/мл, M ± SD MPO:Ag level before therapy, ng/ml, M ± SD min–max	30,18 ± 12,53 12–51	12,03 ± 3,44 9,1–21,5	23,68 ± 7,89 8,1–31,0	6,43 ± 2,50 3,4–12,9	2,45 ± 0,20 2,2–2,8	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001

Примечание: citH3 – цитруллинированный гистон H3; МПО:Аг – антиген миелопероксидазы; 1 – подгруппа 1 (рак тела матки); 2 – подгруппа 2 (рак яичников); 3 – подгруппа 3 (рак шейки матки); 4 – подгруппа 4 (рак молочной железы).

Note: citH3 – citrullinated histone H3; MPO:Ag – myeloperoxidase antigen; 1 – subgroup 1 (uterine body cancer); 2 – subgroup 2 (ovarian cancer); 3 – subgroup 3 (cervical cancer); 4 – subgroup 4 (breast cancer).

Маркеры внеклеточных ловушек нейтрофилов у женщин со злокачественными новообразованиями репродуктивной системы, получавших хирургическое лечение и адъювантную терапию

Таблица 2. Содержание маркеров нетоза (citH3 и МПО:Аг) у онкогинекологических пациенток через 14 дней после оперативного лечения по сравнению с контрольной группой.

Table 2. NETosis markers (citH3 and MPO:Ag) level in female cancer patients 14 days after surgical treatment compared with control group.

Показатель Parameter	Подгруппы онкогинекологических пациенток Subgroups of female cancer patients n = 69				Контроль- ная группа Control group n = 33	Значимость отличий (p) онкогинекологических подгрупп от контрольной группы Significance of difference (p) between female cancer subgroups and control group			
	1 n = 25	2 n = 11	3 n = 17	4 n = 16		1	2	3	4
Концентрация citH3 до начала терапии, нг/мл, M ± SD citH3 level before therapy, ng/ml, M ± SD min-max	2,64 ± 0,68 1,2–4,0	3,95 ± 5,83 1,2–21,4	2,45 ± 0,52 1,2–3,1	0,61 ± 0,44 0,2–2,1	0,33 ± 0,13 0,14–0,60	0,0001	0,0001	0,0001	0,0003
Концентрация МПО:Аг до начала терапии, нг/мл, M ± SD MPO:Ag level before therapy, ng/ml, M ± SD min-max	29,48 ± 11,42 11,42–49,00	11,37 ± 1,76 8,6–14,2	39,27 ± 6,84 9,0–300,3	6,04 ± 2,29 3,4–11,6	2,45 ± 0,20 2,2–2,8	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001

Примечание: citH3 – цитруллинированный гистон H3; МПО:Аг – антиген миелопероксидазы; 1 – подгруппа 1 (рак тела матки); 2 – подгруппа 2 (рак яичников); 3 – подгруппа 3 (рак шейки матки); 4 – подгруппа 4 (рак молочной железы).

Note: citH3 – citrullinated histone H3; MPO:Ag – myeloperoxidase antigen; 1 – subgroup 1 (uterine body cancer); 2 – subgroup 2 (ovarian cancer); 3 – subgroup 3 (cervical cancer); 4 – subgroup 4 (breast cancer).

Таблица 3. Содержание маркеров нетоза (citH3 и МПО:Аг) у онкогинекологических пациенток через 14 дней после второго курса химиотерапии по сравнению с контрольной группой.

Table 3. NETosis markers (citH3 and MPO:Ag) level in female cancer patients 14 days after the second course of chemotherapy compared with control group.

Показатель Parameter	Подгруппы онкогинекологических пациенток Subgroups of female cancer patients n = 42		Контрольная группа Control group n = 33	Значимость отличий (p) онкогинекологических подгрупп от контрольной группы Significance of difference (p) between female cancer subgroups and control group	
	1 n = 25	4 n = 17		1	4
Концентрация citH3 до начала терапии, нг/мл, M ± SD citH3 level before therapy, ng/ml, M ± SD min-max	2,87 ± 0,98 2,0–5,1	1,85 ± 1,35 0,1–5,4	0,33 ± 0,13 0,14–0,60	0,0001	0,0001
Концентрация МПО:Аг до начала терапии, нг/мл, M ± SD MPO:Ag level before therapy, ng/ml, M ± SD min-max	22,5 ± 6,58 15,0–39,2	13,26 ± 4,24 9,0–22,1	2,45 ± 0,20 2,2–2,8	0,0001	0,0001

Примечание: citH3 – цитруллинированный гистон H3; МПО:Аг – антиген миелопероксидазы; 1 – подгруппа 1 (рак тела матки); 4 – подгруппа 4 (рак молочной железы).

Note: citH3 – citrullinated histone H3; MPO:Ag – myeloperoxidase antigen; 1 – subgroup 1 (uterine body cancer); 4 – subgroup 4 (breast cancer).

агентами приводит к фосфорилированию НАДФН-оксидазы протеинкиназой С. Повышенная активность НАДФН-оксидазы приводит к образованию АФК и PAD4-зависимому цитруллинированию гистонов, что ведет к деконденсации хроматина, распаду ядерной мембраны и образованию NETs. В нетозе активное участие принимает пептидил-аргинин деиминаза 4 (англ. peptidyl-arginine deiminase 4, PAD4), которая способствует цитруллинированию гистонов. Пептидил-аргинин деиминазы представляют собой

семейство ферментов, которые катализируют превращение остатков аргинина в остатки цитрулина Ca^{2+} -зависимым образом [23]. Это преобразование приводит к потере заряда белка и называется цитруллинированием [24]. У людей было обнаружено 5 изоформ PAD (PAD1–4 и PAD6) с тканеспецифической экспрессией изоформ [25]. Из существующих изоформ PAD4 обнаруживается в основном в лейкоцитах; это единственный изоформ, который находится в ядре, и подавление PAD4 предотвращает цитруллинирование

Таблица 4. Содержание маркеров нетоза (citH3 и MPO:Ag) у онкогинекологических пациенток до и через 14 дней после оперативного лечения.

Table 4. NETosis markers (citH3 and MPO:Ag) level in female cancer patients before surgery and 14 days afterwards.

Показатель Parameter	Онкогинекологические пациентки Female cancer patients n = 69		Значимость отличий (p) от контрольной группы Significance of difference (p) compared with control group
	до операции before surgery	после операции after surgery	
Концентрация citH3 нг/мл, M ± SD citH3 level, ng/ml, M ± SD min-max	2,09 ± 1,05 0,32–3,50	2,05 ± 1,00 0,2–21,4	0,0209
Концентрация MPO:Ag, нг/мл, M ± SD MPO:Ag level, ng/ml, M ± SD min-max	20,30 ± 13,06 3,4–51,0	19,50 ± 12,37 3,4–300,3	0,0714

Примечание: citH3 – цитруллинированный гистон H3; MPO:Ag – антиген миелопероксидазы.

Note: citH3 – citrullinated histone H3; MPO:Ag – myeloperoxidase antigen.

Таблица 5. Содержание маркеров нетоза (citH3 и MPO:Ag) у онкогинекологических пациенток до начала первого и через 14 дней после второго курса химиотерапии.

Table 5. NETosis markers (citH3 and MPO:Ag) level in female cancer patients before chemotherapy and 14 days after its second course.

Показатель Parameter	Онкогинекологические пациентки Female cancer patients n = 42		Значимость отличий (p) от контрольной группы Significance of difference (p) compared with control group
	до химиотерапии before chemotherapy	после химиотерапии after chemotherapy	
Концентрация citH3 нг/мл, M ± SD citH3 level, ng/ml, M ± SD min-max	1,23 ± 0,71 0,05–2,80	2,46 ± 1,24 0,1–5,4	0,0001
Концентрация MPO:Ag, нг/мл, M ± SD MPO:Ag level, ng/ml, M ± SD min-max	10,02 ± 4,36 3,9–21,5	18,76 ± 7,31 9,0–39,2	0,0001

Примечание: citH3 – цитруллинированный гистон H3; MPO:Ag – антиген миелопероксидазы.

Note: citH3 – citrullinated histone H3; MPO:Ag – myeloperoxidase antigen.

гистона H3 и образование NETs [26]. Мыши, лишённые PAD4, неспособны к деконденсации хроматина или формированию NETs и защищены от тромбоза [27].

В одном из исследований изучалась роль PAD4 в развитии гиперкоагуляции на фоне химиотерапии и повышенной концентрации вкДНК [28]. Было показано, что химиотерапия при раке легких на основе платины индуцирует высвобождение вкДНК, что приводит к увеличению образования тромбина у мышей PAD4^{+/+}. Более того, увеличение концентрации вкДНК и тромбина зависело от PAD4, поскольку химиотерапия не влияла ни на концентрацию вкДНК, ни на образование тромбина у мышей PAD4^{-/-}. Все эти данные свидетельствуют о том, что химиотерапия на основе платины способна вызывать прокоагулянтные эффекты через нетоз у здоровых мышей в течение 24 часов после начала лечения. Нейтрофилы и ранее были идентифицированы как источник индуцированной химиотерапией вкДНК [3]. Химиотерапия на основе платины индуцирует высвобождение вкДНК из нейтрофилов, а не из опухолевых клеток при раке легких или других клеток-хозяев, таких как эндотелиальные клетки или моноциты [29]. Индуцированное химиотерапией высвобождение вкДНК из нейтрофилов происходит путем нетоза, а не апопто-

за или некроза [3]. Нетоз представляет собой PAD4-зависимый процесс, поскольку гистоны нейтрофилов подвергаются цитруллинированию с помощью PAD4 с последующей деконденсацией хроматина [30]. Терапия ДНКазой снижала образование тромбина в плазме мышей PAD4^{+/+}, получавших химиотерапию, но не PAD4^{-/-}, что говорит о том, что химиотерапия на основе платины вызывает прокоагулянтные эффекты посредством высвобождения вкДНК зависимым от PAD4 образом [28]. Опухоль создает среду, которая предрасполагает нейтрофилы к высвобождению вкДНК. Недавние исследования показали, что опухоль-ассоциированные нейтрофилы запускают нетоз под воздействием гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF). После повторного запуска нетоза на фоне химиотерапии праймированные нейтрофилы с большей вероятностью подвергаются нетозу по сравнению с нейтрофилами, которые не подвергались воздействию G-CSF [6]. M. Demers с соавт. также демонстрируют, что прогрессирование опухоли (рак молочной железы) связано с повышением уровня G-CSF, нейтрофилов и вкДНК в плазме [6].

Деградация NETs осуществляется ДНКазой 1, поскольку антитела к ДНКазе 1 подавляют деградацию

NETs [31]. Однако использование физиологических концентраций ДНКазы I недостаточно для достижения полной деградации NETs. Помимо нее играет роль и активное поглощение NETs макрофагами путем фагоцитоза [32]. Химиотерапия не влияет на концентрацию и активность ДНКазы у пациентов при раке молочной железы [33]; вДНК, как известно, способствует развитию прокоагулянтного состояния за счет нарушения процессов фибринолиза [34, 35]. В эксперименте одновременная обработка сгустков крови ДНКазой и тканевым активатором плазминогена (англ. tissue plasminogen activator, tPA) была наиболее эффективной для лизиса, что позволяет предположить, что NETs могут служить каркасом для образования сгустка [36].

В нашем исследовании у 42 пациенток, госпитализированных для проведения химиотерапии, исходно не было выявлено различий в концентрациях маркеров нетоза по сравнению с пациентками, планирующими оперативное вмешательство. Однако далее, через 14 дней после второго курса паклитаксел-содержащей химиотерапии в подгруппе «рак молочной железы» и паклитаксел/карбоплатин-содержащей терапии в подгруппе «рак яичников» рост маркеров нетоза оказался достоверно более выраженным, чем у 69 пациенток через 14 дней после оперативного вмешательства.

Отличительной чертой опухолевой клетки является быстрое и неконтролируемое клеточное деление. Таким образом, принцип действия многих классических химиотерапевтических средств заключается в воздействии на процесс клеточного деления быстро делящихся клеток, оставляя неповрежденными покоящиеся клетки. Чаще всего это достигается за счет использования препаратов, способных вызывать «повреждение» ДНК, приводящее к остановке клеточного цикла и впоследствии к апоптозу.

Первоначально выделенный из коры западного тиса, паклитаксел и родственные таксаны были идентифицированы как многообещающие средства для лечения рака благодаря их способности ингибировать пролиферацию. Паклитаксел оказывает противоопухолевое действие за счет стабилизации тубулина (микротрубочек), что приводит к ингибированию их разборки [37]. Микротрубочки представляют собой полимеры цитоскелета, которые играют роль в формировании цитоскелета клеток, их транспорте, подвижности и делении [38]. Стабилизация микротрубочек достигается преимущественным связыванием паклитаксела с β -тубулином [39], что приводит к остановке митоза и индукции апоптоза в пролиферирующих клетках [40]. Было обнаружено, что таксаны обладают противоопухолевой активностью в отношении многочисленных типов опухолей, включая рак молочной железы, яичников, головного мозга и легких [41].

Карбоплатин является производным цисплатина и таким образом имеет аналогичный механизм дей-

ствия связывания ДНК, ингибирования репликации ДНК и индукции гибели клеток. Как и цисплатин, карбоплатин проходит стадии внутриклеточного гидролиза до образования межцепочечных и внутрицепочечных поперечных связей ДНК. В отличие от своего предшественника цисплатина, карбоплатин обладает меньшей эффективностью, но и меньшим количеством побочных эффектов, что объясняется более низкой скоростью образования аддукта платина-ДНК [42]. Из-за меньшего количества побочных эффектов карбоплатин можно вводить в более высоких дозах.

Нейтрофилы ранее ассоциировались с плохой реакцией на блокаду контрольных точек иммунотерапии. Недавние результаты исследований показали, что нетоз является возможным механизмом такого сопротивления [22]. При аденокарциноме поджелудочной железы Y. Zhang с соавт. определили, что нейтрофилы, активированные интерлейкином-17 (англ. interleukin-17, IL-17), подвергаются нетозу и защищают опухолевые клетки от CD8⁺ Т-клеток. Исследователи обнаружили, что блокада IL-17 повышает чувствительность опухоли к терапии [43].

A. Teijeira с соавт. обнаружили, что агонисты хемокиновых рецепторов CXCR1 и CXCR2 индуцируют нетоз и защищают опухолевые клетки от иммунной цитотоксичности. *In vitro* исследования продемонстрировали, что NETs обволакивают опухолевые клетки, физически препятствующих контакту с CD8⁺ Т-клетками и естественными киллерами. Обработка ДНКазой 1 восстанавливала контакт эффектор-мишень и приводила к уничтожению опухолевых клеток [44].

Пять компонентов NETs описаны как участники формирования резистентности к терапии рака: эластаза нейтрофилов, ММП-9 и катепсин G, а также лиганд рецептора программируемой клеточной гибели 1 (англ. programmed cell death ligand 1, PD-L1) и молекула карциноэмбрионального антигена клеточной адгезии 1 (англ. carcinoembryonic antigen cell adhesion molecule 1, CEACAM1) [7].

Эластаза нейтрофилов представляет собой сериновую протеазу, которая находится в азурофильных гранулах, потенцирует антимикробную активность нейтрофилов и высвобождается во внеклеточное пространство при дегрануляции и нетозе [7]. По результатам исследований, эластаза нейтрофилов может способствовать развитию резистентности к терапии, способствуя эпителиально-мезенхимальному переходу (ЭМП) [45]. При ЭМП клетка переходит в мезенхимальный фенотип с большой миграционной и антиапоптотической способностью [46].

MMP-9 представляет собой белок нейтрофилов, который, как известно, способствует прогрессии рака через внеклеточный матрикс (ВКМ) [47]. Кроме того, недавние исследования показали, что с MMP-9 связана и химиорезистентность опухоли. H. Gao с соавт. при распространенном первичном раке желудка

обнаружили, что положительная экспрессия ММР-9 и связанная с ней деградация ВКМ сопутствовали плохому ответу на химиотерапию [48]. Одним из механизмов влияния ММР-9 является ангиогенез, который, как известно, усложняет лечение рака за счет формирования аномальной сосудистой сети опухоли и торможения диффузии химиотерапевтических агентов [49].

CEACAM1 представляет собой трансмембранный гликопротеин, принадлежащий к семейству белков раково-эмбрионального антигена (англ. carcinoembryonic antigen, CEA), которые участвуют в прогрессии рака и активации нейтрофилов [50]. CEACAM1 из NETs способствует прометастатическому NET-зависимому влиянию, усиливая адгезию и миграцию опухолевых клеток [50]. CEACAM1 также способствует истощению пула Т-клеток [51].

Противоопухолевая активность Т-клеток регулируется мембранным рецептором PD-1, который может способствовать истощению пула Т-клеток при взаимодействии со своим лигандом PDL-1 [51]. Истощение Т-клеток, в свою очередь, является хорошо описанным механизмом прогрессирования рака и резистентности к иммунотерапии [52]. NETs играют большую роль в истощении Т-клеток и формировании резистентности к иммунотерапии, и NETs-зависимое истощение пула Т-клеток устранялось путем использования ДНКазы [53].

Таким образом, результаты исследования, демонстрирующие достоверно более выраженный рост концентрации NETs у пациенток после химиотерапии

по сравнению с пациентками после оперативного лечения, могут явиться основой для формирования гипотезы о том, что нетоз – это один из процессов, лежащих в основе протромботического состояния при проведении химиотерапии, а также возможная причина неэффективности и резистентности к терапии.

Заключение / Conclusion

Нетоз является особым механизмом биологии нейтрофилов, и его значение в клинической онкологии находится на старте изучения.

Химиотерапия является важнейшим компонентом противоопухолевой терапии, поэтому разработка новых стратегий для снижения осложнений, резистентности и повышения эффективности имеет жизненно важное значение. Учитывая вероятность того, что NETs вносят вклад в протромботический потенциал химиотерапии, а также способствуют развитию резистентности к химиотерапии, необходимо рассмотреть целесообразность мониторинга нетоза на фоне лечения с целью прогнозирования и возможного улучшения в будущем ответа на терапию, а также снижения частоты осложнений.

Как клинические, так и фундаментальные научные данные, изложенные в этой статье, подтверждают необходимость дальнейшего изучения NETs-зависимых взаимодействий, способствующих, с одной стороны, развитию протромботических состояний при химиотерапии и раке, а с другой, позволяющих новообразованиям сопротивляться различным видам терапии.

ИНФОРМАЦИЯ О СТАТЬЕ	ARTICLE INFORMATION
Поступила: 11.07.2023. В доработанном виде: 04.08.2023.	Received: 11.07.2023. Revision received: 04.08.2023.
Принята к печати: 07.08.2023. Опубликовано: 30.08.2023.	Accepted: 07.08.2023. Published: 30.08.2023.
Вклад авторов	Author's contribution
Все авторы внесли равный вклад в написание и подготовку рукописи.	All authors contributed equally to the article.
Все авторы прочитали и утвердили окончательный вариант рукописи.	All authors have read and approved the final version of the manuscript.
Конфликт интересов	Conflict of interests
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interests.
Финансирование	Funding
Авторы заявляют об отсутствии финансовой поддержки.	The authors declare no funding.
Согласие пациентов	Patient consent
Получено.	Obtained.
Политика раскрытия данных	Clinical Trials Disclosure Policy
План статистического анализа, принципы анализа и данные об отдельных участниках, лежащие в основе результатов, представленных в этой статье, после деидентификации (текст, таблицы) будут доступны по запросу исследователей, которые предоставят методологически обоснованное предложение для метаанализа данных индивидуальных участников спустя 3 мес и до 5 лет после публикации статьи. Предложения должны быть направлены на почтовый ящик ekaterina@ginekologhirurg.ru . Чтобы получить доступ, лица, запрашивающие данные, должны будут подписать соглашение о доступе к данным.	The statistical analysis plan, analysis principles and data on individual participants that underlie the results presented in this article, after de-identification (text, tables) will be available at the request of researchers who will provide a methodologically sound proposal for a meta-analysis of individual participants' data 3 months later 5 years after the publication of the article. Proposals should be sent to the mailbox ekaterina@ginekologhirurg.ru . In order to gain access, data requesters will need to sign a data access agreement.
Происхождение статьи и рецензирование	Provenance and peer review
Журнал не заказывал статью; внешнее рецензирование.	Not commissioned; externally peer reviewed.

Литература / References:

- van Es N., Sturk A., Middeldorp S., Nieuwland R. Effects of cancer on platelets. *Semin Oncol.* 2014;41(3):311–8. <https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2014.04.015>.
- Thaler J., Pabinger I., Sperr W.R., Ay C. Clinical evidence for a link between microparticle-associated tissue factor activity and overt disseminated intravascular coagulation in patients with acute myelocytic leukemia. *Thromb Res.* 2014;133(3):303–5. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2013.12.029>.
- Swystun L.L., Mukherjee S., Liaw P.C. Breast cancer chemotherapy induces the release of cell-free DNA, a novel procoagulant stimulus. *J Thromb Haemost.* 2011;9(11):2313–21. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2011.04465.x>.
- Schwarzenbach H., Hoon D.S., Pantel K. Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients. *Nat Rev Cancer.* 2011;11(6):426–37. <https://doi.org/10.1038/nrc3066>.
- Lee Y.J., Yoon K.-A., Han J.-Y. et al. Circulating cell-free DNA in plasma of never smokers with advanced lung adenocarcinoma receiving gefitinib or standard chemotherapy as first-line therapy circulating DNA in prognosis of advanced NSCLC. *Clin Cancer Res.* 2011;17(15):5179–87. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-0400>.
- Demers M., Krause D.S., Schatzberg D. et al. Cancers predispose neutrophils to release extracellular DNA traps that contribute to cancer-associated thrombosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109(32):13076–81. <https://doi.org/10.1073/pnas.1200419109>.
- Cools-Lartigue J., Spicer J., Najmeh S., Ferri L. Neutrophil extracellular traps in cancer progression. *Cell Mol Life Sci.* 2014;71(21):4179–94. <https://doi.org/10.1007/s00018-014-1683-3>.
- Holdenrieder S., Stieber P., von Pawel J. et al. Circulating nucleosomes predict the response to chemotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2004;10(18 Pt):5981–7. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-04-0625>.
- Fuchs T.A., Kremer Hovinga J.A., Schatzberg D. et al. Circulating DNA and myeloperoxidase indicate disease activity in patients with thrombotic microangiopathies. *Blood.* 2012;120(6):1157–64. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-02-412197>.
- Coussens L.M., Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature.* 2002;420(6917):860–7. <https://doi.org/10.1038/nature01322>.
- Gonzalez H., Hagerling C., Werb Z. Roles of the immune system in cancer: from tumor initiation to metastatic progression. *Genes Dev.* 2018;32(19–20):1267–84. <https://doi.org/10.1101/gad.314617.118>.
- Shaul M.E., Fridlender Z.G. Tumour-associated neutrophils in patients with cancer. *Nat Rev Clin Oncol.* 2019;16(10):601–20. <https://doi.org/10.1038/s41571-019-0222-4>.
- Burn G.L., Foti A., Marsman G. et al. The neutrophil. *Immunity.* 2021;54(7):1377–91. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.06.006>.
- Papayannopoulos V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease. *Nat Rev Immunol.* 2018;18(2):134. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.105>.
- Huang H., Zhang H., Onuma A.E., Tsung A. Neutrophil elastase and neutrophil extracellular traps in the tumor microenvironment. *Adv Exp Med Biol.* 2020;1263:13–23. https://doi.org/10.1007/978-3-030-44518-8_2.
- Garley M., Jabłońska E., Dąbrowska D. NETs in cancer. *Tumor Biol.* 2016;37(11):14355–61. <https://doi.org/10.1007/s13277-016-5328-z>.
- Bianchi M., Niemiec M.J., Siler U. et al. Restoration of anti-Aspergillus defense by neutrophil extracellular traps in human chronic granulomatous disease after gene therapy is calprotectin-dependent. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127(5):1243–52.e7. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2011.01.021>.
- Wang S., Li Y., Xing C. et al. Tumor microenvironment in chemoresistance, metastasis and immunotherapy of pancreatic cancer. *Am J Cancer Res.* 2020;10(7):1937–53.
- Hedrick C.C., Malanchi I. Neutrophils in cancer: heterogeneous and multifaceted. *Nat Rev Immunol.* 2022;22(3):173–87. <https://doi.org/10.1038/s41577-021-00571-6>.
- Kan M., Imaoka H., Watanabe K. et al. Chemotherapy-induced neutropenia as a prognostic factor in patients with pancreatic cancer treated with gemcitabine plus nab-paclitaxel: a retrospective cohort study. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2020;86(2):203–10. <https://doi.org/10.1007/s00280-020-04110-3>.
- Kasi P.M., Grothey A. Chemotherapy-induced neutropenia as a prognostic and predictive marker of outcomes in solid-tumor patients. *Drugs.* 2018;78(7):737–45. <https://doi.org/10.1007/s40265-018-0909-3>.
- Zhang Y., Guoqiang L., Sun M., Lu X. Targeting and exploitation of tumor-associated neutrophils to enhance immunotherapy and drug delivery for cancer treatment. *Cancer Biol Med.* 2020;17(1):32–43. <https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2019.0372>.
- Vossenaar E.R., Zendman A.J., van Venrooij W.J., Pruijn G.J. PAD, a growing family of citrullinating enzymes: genes, features and involvement in disease. *Bioessays.* 2003;25(11):1106–18. <https://doi.org/10.1002/bies.10357>.
- Hensen S.M., Pruijn G.J. Methods for the detection of peptidylarginine deiminase (PAD) activity and protein citrullination. *Mol Cell Proteomics.* 2014;13(2):388–96. <https://doi.org/10.1074/mcp.R113.033746>.
- van Beers J.J., Zendman A.J., Rajmakers R. et al. Peptidylarginine deiminase expression and activity in PAD2 knock-out and PAD4-low mice. *Biochimie.* 2013;95(2):299–308. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2012.09.029>.
- Lewis H.D., Liddle J., Coote J.E. et al. Inhibition of PAD4 activity is sufficient to disrupt mouse and human NET formation. *Nat Chem Biol.* 2015;11(3):189–91. <https://doi.org/10.1038/nchembio.1735>.
- Martinod K., Demers M., Fuchs T.A. et al. Neutrophil histone modification by peptidylarginine deiminase 4 is critical for deep vein thrombosis in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110(21):8674–9. <https://doi.org/10.1073/pnas.1301059110>.
- Lysov Z., Dwivedi D.J., Gould T.J., Liaw P.C. Procoagulant effects of lung cancer chemotherapy: impact on microparticles and cell-free DNA. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2017;28(1):72–82. <https://doi.org/10.1097/MBC.0000000000000546>.
- Lysov Z., Swystun L.L., Kuruvilla S. et al. Lung cancer chemotherapy agents increase procoagulant activity via protein disulfide isomerase-dependent tissue factor decryption. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2015;26(1):36–45. <https://doi.org/10.1097/MBC.0000000000000145>.
- Wang H.-J., Huang H., Chuang Y.-C., Huang H.-C. Paclitaxel induces up-regulation of tissue factor in human aortic endothelial cells. *Int Immunopharmacol.* 2009;9(1):144–7. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2008.10.003>.
- Hakim A., Füllrohr B.G., Amann K. et al. Impairment of neutrophil extracellular trap degradation is associated with lupus nephritis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(21):9813–18. <https://doi.org/10.1073/pnas.0909927107>.
- Farrera C., Fadeel B. Macrophage clearance of neutrophil extracellular traps is a silent process. *J Immunol.* 2013;191(5):2647–56. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1300436>.
- Stoetzer O.J., Fersching D.M., Salat C. et al. Prediction of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients by circulating apoptotic biomarkers nucleosomes, DNase, cytokeratin-18 fragments and survivin. *Cancer Lett.* 2013;336(1):140–8. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2013.04.013>.
- Longstaff C., Varjú I., Sótönyi P. et al. Mechanical stability and fibrinolytic resistance of clots containing fibrin, DNA, and histones. *J Biol Chem.* 2013;288(10):6946–56. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.404301>.
- Varjú I., Longstaff C., Szabó L. et al. DNA, histones and neutrophil extracellular traps exert anti-fibrinolytic effects in a plasma environment. *Thromb Haemost.* 2015;113(6):1289–98. <https://doi.org/10.1160/TH14-08-0669>.
- Fuchs T.A., Brill A., Duerschmied D. et al. Extracellular DNA traps promote thrombosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(36):15880–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.1005743107>.
- Schiff P.B., Fant J., Horwitz S.B. Promotion of microtubule assembly in vitro by taxol. *Nature.* 1979;277(5698):665–7. <https://doi.org/10.1038/277665a0>.
- Nogales E., Grayer Wolf S., Khan I.A. et al. Structure of tubulin at 6.5 Å and location of the taxol-binding site. *Nature.* 1995;375(6530):424–7. <https://doi.org/10.1038/375424a0>.
- Nogales E. Structural insights into microtubule function. *Annu Rev*

- Biochem.* 2000;69:277–302. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.69.1.277>.
40. Schiff P.B., Horwitz S.B. Taxol stabilizes microtubules in mouse fibroblast cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1980;77(3):1561–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.77.3.1561>.
41. Marupudi N.I., Han J.E., Li K.W. et al. Paclitaxel: a review of adverse toxicities and novel delivery strategies. *Expert Opin Drug Saf.* 2007;6(5):609–21. <https://doi.org/10.1517/14740338.6.5.609>.
42. Knox R.J., Friedlos F., Lydall D.A., Roberts J.J. Mechanism of cytotoxicity of anticancer platinum drugs: evidence that cis-diamminedichloroplatinum (II) and cis-diammine-(1,1-cyclobutanedicarboxylato) platinum (II) differ only in the kinetics of their interaction with DNA. *Cancer Res.* 1986;46(4 Pt):1972–9.
43. Zhang Y., Chandra V., Riquelme Sanchez E. et al. Interleukin-17-induced neutrophil extracellular traps mediate resistance to checkpoint blockade in pancreatic cancer. *J Exp Med.* 2020;217(12):e20190354. <https://doi.org/10.1084/jem.20190354>.
44. Teixeira A., Garasa S., Gato M. et al. CXCR1 and CXCR2 chemokine receptor agonists produced by tumors induce neutrophil extracellular traps that interfere with immune cytotoxicity. *Immunity.* 2020;52(5):856–71.e8. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.03.001>.
45. Zhu T., Zou X., Yang C. et al. Neutrophil extracellular traps promote gastric cancer metastasis by inducing epithelial-mesenchymal transition. *Int J Mol Med.* 2021;48(1):127. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2021.4960>.
46. Ribatti D., Tamma R., Annese T. Epithelial-mesenchymal transition in cancer: a historical overview. *Trans Oncol.* 2020;13(6):100773. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2020.100773>.
47. Cabral-Pacheco G.A., Garza-Veloz I., Castruita-De la Rosa C. et al. The roles of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human diseases. *Int J Mol Sci.* 2020;21(24):9739. <https://doi.org/10.3390/ijms21249739>.
48. Gao H., Lan X., Li S., Xue Y. Relationships of MMP-9, E-cadherin, and VEGF expression with clinicopathological features and response to chemosensitivity in gastric cancer. *Tumor Biol.* 2017;39(5):1010428317698368. <https://doi.org/10.1177/1010428317698368>.
49. Viallard C., Larrivée B. Tumor angiogenesis and vascular normalization: alternative therapeutic targets. *Angiogenesis.* 2017;20(4):409–26. <https://doi.org/10.1007/s10456-017-9562-9>.
50. Rayes R.F., Vourtzoumis P., Rjeily M.B. et al. Neutrophil extracellular trap-associated CEACAM1 as a putative therapeutic target to prevent metastatic progression of colon carcinoma. *J Immunol.* 2020;204(8):2285–94. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1900240>.
51. Wherry E.J. T cell exhaustion. *Nat Immunol.* 2011;12(6):492–9. <https://doi.org/10.1038/ni.2035>.
52. Jiang W., He Y., He W. et al. Exhausted CD8+ T cells in the tumor immune microenvironment: new pathways to therapy. *Front Immunol.* 2021;11:622509. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.622509>.
53. Kaltenmeier C., Yazdani H.O., Morder K. et al. Neutrophil extracellular traps promote T cell exhaustion in the tumor microenvironment. *Front Immunol.* 2021;12:785222. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.785222>.

Сведения об авторах:

Слуханчук Екатерина Викторовна – к.м.н., доцент кафедры акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Россия. E-mail: ekaterina@ginekologhirurg.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7441-2778>.

Бицадзе Виктория Омаровна – д.м.н., профессор РАН, профессор кафедры акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8404-1042>. Scopus Author ID: 6506003478. Researcher ID: F-8409-2017.

Солопова Антонина Григорьевна – д.м.н., профессор кафедры акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7456-2386>. Scopus Author ID: 6505479504. Researcher ID: Q-1385-2015.

Хизроева Джамиля Хизриевна – д.м.н., профессор кафедры акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), Москва, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0725-9686>. Scopus Author ID: 57194547147. Researcher ID: F-8384-2017.

Гри Жан-Кристоф – д.м.н., профессор кафедры акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), Москва, Россия; профессор гематологии, зав. лабораторией гематологии факультета биологических и фармацевтических наук Университета Монпелье и Университетской больницы Нима, Франция; иностранный член РАН, Москва, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9899-9910>. Scopus Author ID: 7005114260. Researcher ID: AAA-2923-2019.

Элалами Исмаил – д.м.н., профессор кафедры акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), Москва, Россия; профессор медицинского Университета Сорбонны, Париж, Франция; директор гематологии Центра Тромбозов, Госпиталь Тенон, Париж, Франция. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9576-1368>. Scopus Author ID: 7003652413. Researcher ID: AAC-9695-2019.

Дегтярева Наталья Дмитриевна – студент 5-го курса Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), Москва, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8100-0189>.

Гилева Мария Алексеевна – клинический ординатор кафедры акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет), Москва, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-1689-7240>.

Самбунова Наталья Викторовна – к.м.н., доцент кафедры патофизиологии Института биодизайна и моделирования сложных систем ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), Москва, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4564-8439>. Scopus Author ID: 57208129705.

Щербаков Денис Викторович – к.м.н., доцент кафедры общей гигиены института общественного здоровья имени Ф.Ф. Эрисмана ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), Москва, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0226-9276>.

Якубова Фидан Эльчин кызы – клинический ординатор кафедры акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), Москва, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8882-1588>.

Зелепухина Мария Евгеньевна – студент 5-го курса Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), Москва, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3058-900X>.

Маркеры внеклеточных ловушек нейтрофилов у женщин со злокачественными новообразованиями репродуктивной системы, получавших хирургическое лечение и адъювантную терапию

Блинов Дмитрий Владиславович – к.м.н., ассистент кафедры спортивной медицины и медицинской реабилитации Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Россия; руководитель по медицинским и научным вопросам, Институт Превентивной и Социальной Медицины, Москва, Россия; доцент кафедры спортивной, физической и реабилитационной медицины АНО ДПО «Московский медико-социальный институт имени Ф.П. Гааза», Москва, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3367-9844>. Scopus Author ID: 6701744871. Researcher ID: E-8906-2017. RSCI: 9779-8290.

Макацария Александр Давидович – д.м.н., профессор, академик РАН, зав. кафедрой акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Россия; вице-президент Российского общества акушеров-гинекологов (РОАГ); Заслуженный врач Российской Федерации; Почетный профессор Венского Университета. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7415-4633>. Scopus Author ID: 57222220144. Researcher ID: M-5660-2016.

About the authors:

Ekaterina V. Slukhanchuk – MD, PhD, Associate Professor, Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatal Medicine, Filatov Clinical Institute of Children's Health, Sechenov University, Moscow, Russia. E-mail: ekaterina@ginekolohirurg.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7441-2778>.

Victoria O. Bitsadze – MD, Dr Sci Med, Professor of RAS, Professor, Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatal Medicine, Filatov Clinical Institute of Children's Health, Sechenov University, Moscow, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8404-1042>. Scopus Author ID: 6506003478. Researcher ID: F-8409-2017.

Antonina G. Solopova – MD, Dr Sci Med, Professor, Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatal Medicine, Filatov Clinical Institute of Children's Health, Sechenov University, Moscow, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7456-2386>. Scopus Author ID: 6505479504. Researcher ID: Q-1385-2015.

Jamiliya Kh. Khizroeva – MD, Dr Sci Med, Professor, Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatal Medicine, Filatov Clinical Institute of Children's Health, Sechenov University, Moscow, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0725-9686>. Scopus Author ID: 57194547147. Researcher ID: F-8384-2017.

Jean-Christophe Gris – MD, Dr Sci Med, Professor, Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatal Medicine, Filatov Clinical Institute of Children's Health, Sechenov University, Moscow, Russia; Professor of Haematology, Head of the Laboratory of Haematology, Faculty of Biological and Pharmaceutical Sciences, Montpellier University and University Hospital of Nîmes, France; Foreign Member of RAS, Moscow, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9899-9910>. Scopus Author ID: 7005114260. Researcher ID: AAA-2923-2019.

Ismaïl Elalamy – MD, Dr Sci Med, Professor, Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatal Medicine, Filatov Clinical Institute of Children's Health, Sechenov University, Moscow, Russia; Professor, Medicine Sorbonne University, Paris, France; Director of Hematology, Department of Thrombosis Center, Hospital Tenon, Paris, France. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9576-1368>. Scopus Author ID: 7003652413. Researcher ID: AAC-9695-2019.

Natalia D. Degtyareva – 5th year Student, Filatov Clinical Institute of Children's Health, Sechenov University, Moscow, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8100-0189>.

Maria A. Gileva – MD, Clinical Resident, Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatal Medicine, Filatov Clinical Institute of Children's Health, Sechenov University, Moscow, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-1689-7240>.

Natalia V. Samburova – MD, PhD, Associate Professor, Department of Pathophysiology, Institute of Biodesign and Modeling of Complex Systems, Sechenov University, Moscow, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4564-8439>. Scopus Author ID: 57208129705.

Denis V. Shcherbakov – MD, PhD, Associate Professor, Department of General Hygiene, Erisman Institute of Public Health, Sechenov University, Moscow, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0226-9276>.

Fidan E. Yakubova – MD, Clinical Resident, Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatal Medicine, Filatov Clinical Institute of Children's Health, Sechenov University, Moscow, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8882-1588>.

Maria E. Zelepukhina – 5th year Student, Filatov Clinical Institute of Children's Health, Sechenov University, Moscow, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3058-900X>.

Dmitry V. Blinov – MD, PhD, MBA, Assistant, Department of Sports Medicine and Medical Rehabilitation, Sklifosovsky Institute of Clinical Medicine, Sechenov University, Moscow, Russia; Head of Medical and Scientific Affairs, Institute for Preventive and Social Medicine, Moscow, Russia; Associate Professor, Department of Sports, Physical and Rehabilitation Medicine, Moscow Haass Medical – Social Institute, Moscow, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3367-9844>. Scopus Author ID: 6701744871. Researcher ID: E-8906-2017. RSCI: 9779-8290.

Alexander D. Makatsariya – MD, Dr Sci Med, Academician of RAS, Professor, Head of the Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatal Medicine, Filatov Clinical Institute of Children's Health, Sechenov University, Moscow, Russia; Vice-President of the Russian Society of Obstetricians and Gynecologists (RSOG); Honorary Doctor of the Russian Federation; Emeritus Professor of the University of Vienna. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7415-4633>.