

DOI: 10.17650/1994-4098-2023-19-2-89-93



Прогностические возможности CD4⁺ при раке молочной железы T1–2N0M0

Р.М. Палтуев, А.Г. Кудайбергенова, В.Ф. Семиглазов, А.В. Комяхов, А.И. Целуйко*ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России; Россия, 197758 Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68***Контакты:** Руслан Маликович Палтуев paltuev@mail.ru

Цель исследования – оценить прогностические возможности CD4⁺ при раке молочной железы (РМЖ) T1–2N0M0. **Материалы и методы.** Осуществляли количественную оценку CD4⁺-Т-лимфоцитов в стромальных клетках опухоли и определяли прогностический параметр в соответствии с разработанным нами способом (патент № RU2697709C1 от 19.08.2019) у 394 пациентов с диагнозом инфильтративного РМЖ. Выживаемость пациентов в анализируемой группе оценена на протяжении периода 10 лет.

В работе был использован архивный материал из парафиновых блоков «таргетной группы» для методик молекулярно-генетического профилирования (T1–2N0M0, 1118 больных, 2000–2009 гг.). Осуществляли сканирование окрашенного гематоксилином и эозином гистологического препарата, выделяли центральную и периферическую зоны опухоли. Для идентификации CD4⁺-Т-лимфоцитов проводили иммуногистохимическое исследование препаратов, полученных с кроличьими моноклональными антителами к CD4. После повторного сканирования гистологических и иммуногистохимических препаратов, совмещения различных иммуногистохимических окрасок проводили подсчет клеточной плотности в опухолевом и стромальном компонентах в препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином и CD4. Для дальнейших расчетов использовали данные, полученные в результате приведенного к 1 мм² числа стромальных клеток (по окрашенному гематоксилином и эозином препарату), так называемую клеточную плотность на расчетное число CD4⁺-окрашенных клеток (клеточная площадь × доля CD4⁺-клеток в процентах). Полученное отношение используют для прогностической оценки исхода РМЖ: при его значении ≤50 % прогноз оценивают как благоприятный (при котором выживаемость пациента составляет 10 и более лет).

Результаты. У 296 (75 %) из 394 наблюдаемых больных содержание CD4⁺-Т-лимфоцитов в стромальных клетках опухоли составляло ≤50 %. За 10 лет общая выживаемость больных в данной группе составила 93 %, что при РМЖ (стадии T1–2, N0) считается статистически благоприятной группой. У 98 (25 %) из 394 наблюдаемых больных указанное содержание CD4⁺-Т-лимфоцитов составляло >50 %. За 10 лет общая выживаемость больных в данной группе составила 82 %, что при РМЖ (стадии T1–2, N0) считается статистически неблагоприятной группой.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о высокой достоверности прогноза РМЖ на основании количественной оценки CD4⁺-Т-лимфоцитов в стромальных клетках опухоли. Разработанный способ может быть использован для определения прогноза РМЖ на ранних стадиях заболевания (T1–2, N0).

Ключевые слова: прогноз рака молочной железы, прогностический параметр, инфильтрирующая опухоль лимфоциты, иммунокомпетентные клетки, CD4⁺-Т-лимфоциты

Для цитирования: Палтуев Р.М., Кудайбергенова А.Г., Семиглазов В.Ф. и др. Прогностические возможности CD4⁺ при раке молочной железы T1–2N0M0. Опухоли женской репродуктивной системы 2023;19(2):89–93. DOI: 10.17650/1994-4098-2023-19-2-89-93

Prognostic value of CD4⁺ in patients with T1–2N0M0 breast cancer

R.M. Paltuev, A.G. Kudaybergenova, V.F. Semiglazov, A.V. Komyakhov, A.I. Tseluyko*N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 68 Leningradskaya St., Pesochnyy Settlement, Saint Petersburg 197758, Russia***Contacts:** Ruslan Malikovich Paltuev paltuev@mail.ru

Aim. To evaluate the prognostic value of CD4⁺ in patients with T1–2N0M0 breast cancer.

Materials and methods. We performed a quantitative assessment of CD4⁺ T-lymphocytes in tumor stromal cells and determined the prognostic parameter using the method developed by us (patent No. RU2697709C1 dated 19.08.2019)

in 394 patients diagnosed with infiltrative breast cancer. Survival of patients in the analyzed group was assessed over a period of 10 years.

Archival material from paraffin blocks of the «target group» was used in the work for molecular genetic profiling techniques (T1–2N0M0, 1118 patients, 2000–2009). A histological preparation stained with hematoxylin and eosin was scanned, and the central and peripheral zones of the tumor were isolated. To identify CD4⁺ T-lymphocytes, the immunohistochemical study of preparations obtained with rabbit anti-CD4 monoclonal antibodies was performed. After rescanning histological and immunohistochemical preparations, combining different immunohistochemical stains, the cell density in the tumor and stromal components was calculated in preparations stained with hematoxylin and eosin and CD4. For further calculations, we used the data obtained as a result of the number of stromal cells reduced to 1 mm² (according to the preparation stained with hematoxylin and eosin), the so-called cell density per calculated number of CD4⁺-stained cells (cell area × proportion of CD4⁺ cells in percentages). The resulting ratio is used to predict the outcome of breast cancer: if its value is ≤50 %, the prognosis is assessed as favorable (in which the patient's survival is 10 years or more).

Results. In 296 (75 %) of 394 observed patients, the proportion of CD4⁺ T-lymphocytes in tumor stromal cells was ≤50 %. Over 10 years, the overall survival of patients in this group was 93 %, which is considered a statistically favorable group for breast cancer (stages T1–2, N0). In 98 (25 %) of 394 observed patients, the proportion of CD4⁺ T-lymphocytes in tumor stromal cells was >50 %. Over 10 years, the overall survival of patients in this group was 82 %, which is considered a statistically unfavorable group for breast cancer (stages T1–2, N0).

Conclusion. Our findings suggest high accuracy of our method of breast cancer prognosis based on the quantitative assessment of CD4⁺ T-lymphocytes in tumor stromal cells. It can be used for breast cancer prognosis in early stages (T1–2, N0).

Keywords: breast cancer prognosis, prognostic parameter, tumor-infiltrating lymphocytes, immunocompetent cells, CD4⁺-T-lymphocytes

For citation: Paltuev R.M., Kudaybergenova A.G., Semiglazov V.F. et al. Prognostic value of CD4⁺ in patients with T1–2N0M0 breast cancer. *Opukholi zhenskoy reproduktivnoy systemy* = Tumors of female reproductive system 2023;19(2):89–93. (In Russ.). DOI: 10.17650/1994-4098-2023-19-2-89-93

Введение

В настоящее время известно, что биологическое поведение злокачественной опухоли, которое характеризует скорость ее роста, способность к инвазии и распространению, зависит от многих факторов, связанных как с ее особенностями, так и с эффективностью или неэффективностью системных защитных механизмов, среди которых важное место занимают иммунные.

Актуальной задачей онкологии остается поиск новых подходов к прогнозированию течения заболевания с использованием параметров, учитывающих качественный и количественный состав иммунокомпетентных клеток, в частности различных видов Т-лимфоцитов и их субпопуляций.

Лейкоциты, инфильтрирующие опухоль, детально изучены при различных злокачественных новообразованиях. Фактически они представляют собой гетерогенную популяцию клеток (CD8⁺, CD4⁺, В-, NK-клеток, макрофагов и пр.), которые могут как подавлять прогрессирование опухоли, так и способствовать ее прогрессированию [1].

Лимфоцитарная инфильтрация наиболее характерна для HER2-положительного и трижды негативного рака молочной железы (РМЖ). Выделяют внутриопухолевую и стромальную лимфоцитарную инфильтрацию [2]. Ряд фактов свидетельствует о значимой взаимосвязи лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль (особенно стромальных), со снижением риска рецидива заболе-

вания и смертности как при HER2-положительном [3], так и при трижды негативном РМЖ [2].

Связь количества и плотности инфильтрирующих опухоль лимфоцитов с выживаемостью и риском рецидива заболевания продемонстрирована во многих исследованиях (см., например, [4–6]).

Т-лимфоциты, в том числе CD4⁺ (регуляторные), являются одними из ключевых участников клеточного звена иммунитета у больных РМЖ, их прогностическая и предиктивная значимость установлена в целом ряде исследований [7–13].

Международная рабочая группа по изучению инфильтрирующих опухоль лимфоцитов выпустила рекомендации по их оценке при РМЖ [1]. Согласно данным рекомендациям для оценки плотности инфильтрирующих опухоль лимфоцитов следует изучать в первую очередь строму. Стромальные лимфоциты — это лимфоциты, располагающиеся в строме между опухолевыми клетками и не контактирующие с ними непосредственно. Определение стромальных инфильтрирующих опухоль лимфоцитов является практически более обоснованным в силу их преобладания над внутриопухолевыми, относительной легкости подсчета, а также ввиду прогностической значимости именно стромальных лимфоцитов [1].

Следует отметить, что индивидуализация лечения РМЖ на основе анализа прогностических и/или предиктивных маркеров является важным и активно развивающимся направлением современной онкологии.

Персонализированный подход позволяет повысить эффективность терапии, а также снизить затраты на оказание медицинской помощи за счет выбора оптимальной схемы лечения. В то же время в практическом здравоохранении исследования биомаркеров при РМЖ до сих пор не получили широкого применения из-за высокой стоимости и сложности.

Так, известен способ прогнозирования 5-летней выживаемости пациенток с инфильтративным РМЖ [14], основанный на определении суммарного балла злокачественности, учитывающего в том числе степень лимфогистиоцитарной инфильтрации по периферии опухолевого узла (в зоне инвазивного роста), о которой судят по количеству лимфоцитов в указанной области. Суммарный балл злокачественности определяют путем простого суммирования оцененных в баллах значений 6 микроморфологических параметров: степени дифференцировки, клеточного полиморфизма, митотической активности опухолевых клеток, характера инвазивного роста, степени лимфогистиоцитарной инфильтрации, наличия опухолевых эмболов в сосудах стромы. При значении суммарного балла ≤ 14 прогнозируют благоприятный исход заболевания с 95 % вероятностью, а при значении суммарного балла злокачественности ≥ 15 прогнозируют неблагоприятный исход заболевания.

Однако данный способ требует осуществления большого количества разноплановых микроскопических исследований, что обуславливает его сложность.

Еще один способ прогнозирования РМЖ [15] включает анализ количества инфильтрирующих опухоль Т-лимфоцитов на основе статуса метилирования по меньшей мере 1 позиции CpG в 1 или нескольких генах для CD3 γ , - δ , и - ϵ в образце опухоли, полученном от пациента. При этом большое количество инфильтрирующих опухоль Т-лимфоцитов указывает на более низкую выживаемость у пациентов с РМЖ.

Способ является очень сложным и дорогостоящим, поскольку основан на осуществлении микроскопических генетических исследований, включающих большое количество манипуляций с биочипами, полученными из гистологического препарата, изготовленного из ткани опухоли. Кроме того, при данном способе не используется четкий количественный прогностический показатель, что снижает точность прогноза.

Таким образом, в настоящее время актуальным остается поиск более простых в исполнении и недорогих способов прогнозирования РМЖ.

Нами предложен способ определения прогноза РМЖ с использованием нового критерия, основанного на количественной оценке субпопуляции CD4⁺-Т-лимфоцитов в строме опухоли.

Цель исследования — оценить прогностические возможности CD4⁺ при РМЖ T1–2N0M0.

Материалы и методы

Осуществляли количественную оценку CD4⁺-Т-лимфоцитов в стромальных клетках опухоли и определяли прогностический параметр в соответствии с разработанным нами способом (патент № 2697709С1 от 19.08.2019 [16]) у 394 пациентов с диагнозом инфильтративного РМЖ. Выживаемость пациентов в анализируемой группе оценена на протяжении периода 10 лет.

В работе был использован архивный материал из парафиновых блоков «таргетной группы» для методик молекулярно-генетического профилирования (T1–2N0M0, всего 1118 больных, 2000–2009 гг.). После сканирования стандартного окрашенного гематоксилином и эозином гистологического препарата и разметки зон интереса, включавших опухоль в центральной и периферической зонах, были сформированы соответствующие гистологическим препаратам блоки-доноры, залиты в блоки-реципиенты, и сформированы тканевые матрицы. Затем для идентификации CD4⁺-Т-лимфоцитов проводилось иммуногистохимическое (ИГХ) исследование препаратов, полученных с TMA (тканевые матрицы) кроличьими моноклональными антителами к CD4 (клон SP35, CONFIRM Ventana).

Полученные гистологические и ИГХ-препараты повторно сканировали с помощью системы Panoramic 250 (3DHISTECH, Венгрия) (<https://www.3dhistech.com>), совмещали различные ИГХ-окраски с помощью программного пакета TMA-module (3DHISTECH) и проводили подсчет клеточной плотности в опухолевом и стромальном компонентах с помощью программного модуля CellQuant (3DHISTECH) в препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином и CD4. Полученные значения: общее число клеток, общее число клеток с пересчетом на единицу площади (1 мм²), число стромальных и опухолевых клеток отдельно с пересчетом на единицу площади и доля CD4-окрашенных клеток в процентах. Эти данные вносили в таблицу для статистической обработки.

В итоге для дальнейших расчетов использовали данные, полученные в результате приведенного к 1 мм² числа стромальных клеток (по окрашенному гематоксилином и эозином препарату), так называемую клеточную плотность на расчетное число CD4⁺-окрашенных клеток (клеточная площадь \times доля CD4⁺-клеток в процентах).

Полученное отношение используют для прогностической оценки исхода РМЖ: при его значении ≤ 50 % прогноз оценивают как благоприятный (при котором выживаемость пациента составляет 10 и более лет).

Следует отметить, что вышеуказанный критерий был установлен на основании статистической обработки результатов микроскопического исследования

гистологических препаратов, и предлагаемый критерий применим для всех подтипов РМЖ [17].

Реализация данного способа исследования CD4⁺-Т-лимфоцитов основана на использовании автоматизированных приемов обработки и анализа цифровых изображений гистологических препаратов с помощью компьютерных программ. При этом не требуется осуществления сложных трудоемких манипуляций с исследуемым материалом и применения дорогостоящих препаратов и специального оборудования. Процедура определения прогностического параметра является практически оператор-независимой, что повышает точность и объективность способа.

Гистологические и иммуногистохимические исследования были проведены в лаборатории ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России. Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью пакетов прикладных программ Statistica 10 и SAS JMP 11.

Результаты

У 296 (75 %) из 394 наблюдаемых больных содержание CD4⁺-Т-лимфоцитов в стромальных клетках опухоли составляло ≤50 %. За 10 лет общая выживаемость больных в данной группе составила 93 %, что при РМЖ (стадии T1–2, N0) считается статистически благоприятной группой.

У 98 (25 %) из 394 наблюдаемых больных указанное содержание CD4⁺-Т-лимфоцитов составляло >50 %. За 10 лет общая выживаемость больных в данной группе составила 82 %, что при РМЖ (стадии T1–2, N0) считается статистически неблагоприятной группой.

Данные результаты свидетельствуют о высокой достоверности прогноза РМЖ, определенного на основании количественной оценки CD4⁺-Т-лимфоцитов в стромальных клетках опухоли.

Заключение

В настоящее время актуальным остается поиск более простых в исполнении способов прогноза РМЖ, в том числе с использованием параметров, учитывающих качественный и количественный состав иммунокомпетентных клеток.

Нами предложен способ прогнозирования РМЖ с использованием нового критерия, основанного на количественной оценке субпопуляции CD4⁺-Т-лимфоцитов в строме опухоли, и оценены его прогностические возможности при РМЖ стадий T1–2N0M0. Данный способ предполагает проведение микроскопического исследования гистологического препарата из опухоли пациента, в ходе которого идентифицируют инфильтрирующие опухоль CD4⁺-Т-лимфоциты, оценивают их количество и используют полученные данные для прогностической оценки. Реализация этого способа прогноза основана на использовании автоматизированных приемов обработки и анализа цифровых изображений исследуемых гистологических препаратов с помощью компьютерных программ, процедура определения прогностического параметра является практически оператор-независимой, что повышает точность и объективность способа.

Результаты наблюдения за пациентами с диагнозом инфильтративного РМЖ ($n = 394$) позволяют сделать вывод о высокой достоверности прогноза РМЖ, определенного на основании количественной оценки CD4⁺-Т-лимфоцитов в стромальных клетках опухоли. Разработанный способ может быть использован для прогнозирования РМЖ на ранних стадиях заболевания (T1–2, N0).

Таким образом, использование предложенного прогностического параметра решает проблему упрощения и удешевления способа прогнозирования РМЖ при обеспечении высокой достоверности прогноза.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Salgado R., Denkert C., Demaria S. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Ann Oncol* 2015;2(26):259–71. DOI: 10.1093/annonc/mdl450
2. Loi S., Sirtaine N., Piette F. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in a phase III randomized adjuvant breast cancer trial in node-positive breast cancer comparing the addition of docetaxel to doxorubicin with doxorubicin-based chemotherapy: BIG 02-98. *J Clin Oncol* 2013;7(31):860–7. DOI: 10.1200/JCO.2011.41.0902
3. Dieci M.V., Radošević-Robin N., Fineberg S. et al. Update on tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer, including recommendations to assess TILs in residual disease after neoadjuvant therapy and in carcinoma in situ: A report of the International Immuno-Oncology Biomarker Working Group on Breast Cancer. *Semin Cancer Biol* 2018;Pt 2(52):16–25. DOI: 10.1016/j.semcancer.2017.10.003
4. Dieci M.V., Criscitiello C., Goubar A. et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes on residual disease after primary chemotherapy for triple-negative breast cancer: A retrospective multicenter study. *Ann Oncol* 2014;3(25):611–8. DOI: 10.1093/annonc/mdt556
5. Loi S., Michiels S., Salgado R. et al. Tumor infiltrating lymphocytes are prognostic in triple negative breast cancer and predictive for trastuzumab benefit in early breast cancer: results from the FinHER trial. *Ann Oncol* 2014;8(25):1544–50. DOI: 10.1093/annonc/mdl112
6. Perez E.A. Abstract S1-06: Stromal tumor-infiltrating lymphocytes (S-TILs): In the alliance N9831 trial S-TILs are associated with chemotherapy benefit but not associated with trastuzumab benefit. *Cancer Res* 2015;9(Suppl 75):S1-06-S1-06.
7. De Jong V.M.T., Wang Y., Opdam M. et al. Prognostic value of tumor infiltrating lymphocytes in young triple negative breast cancer patients who did not receive adjuvant systemic treatment;

- by the PARADIGM study group. *Ann Oncol* 2020;31:S303–S339. DOI: 10.1200/JCO.21.01536
8. Gao Z.H., Li C.X., Liu M. et al. Predictive and prognostic role of tumour-infiltrating lymphocytes in breast cancer patients with different molecular subtypes: A meta-analysis. *BMC Cancer* 2020;20(1):1150. DOI: 10.1186/s12885-020-07654-y
 9. Jiang X., Shapiro D.J. The immune system and inflammation in breast cancer. *Mol Cell Endocrinol* 2014;1(382):673–82. DOI: 10.1016/j.mce.2013.06.003
 10. Loi S., Michiels S., Loibl S. et al. The journey of tumor-infiltrating lymphocytes as a biomarker in breast cancer: Clinical utility in an era of checkpoint inhibition. *Ann Oncol* 2021;32(10):1236–44. DOI: 10.1016/j.annonc.2021.07.007
 11. Oda N., Shimazu K., Naoi Y. et al. Intratumoral regulatory T cells as an independent predictive factor for pathological complete response to neoadjuvant paclitaxel followed by 5-FU/epirubicin/cyclophosphamide in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2012;1(136):107–16. DOI: 10.1007/s10549-012-2245-8
 12. Park J., Jonas S.F., Bataillon G. et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in patients with early-stage triple-negative breast cancers (TNBC) who did not receive adjuvant chemotherapy. *Ann Oncol* 2019;30(12):1941–9. DOI: 10.1093/annonc/mdz395
 13. Seo A.N., Lee H.J., Kim E.J. et al. Tumour-infiltrating CD8⁺ lymphocytes as an independent predictive factor for pathological complete response to primary systemic therapy in breast cancer. *Brit J Cancer* 2013;10(109):2705–13. DOI: 10.1038/bjc.2013.634
 14. Кометова В.В., Занкин В.В., Хайруллин Р.М., Родионов В.В. Способ прогнозирования пятилетней выживаемости пациентов с инфильтрирующим раком молочной железы путем определения суммарного балла злокачественности. Патент RU2547561C1 от 10.04.2015. Доступно по: <https://patents.google.com/patent/RU2547561C1/ru>. Kometova V.V., Zankin V.V., Khayrullin R.M., Rodionov V.V. A method for predicting the five-year survival rate of patients with infiltrating breast cancer by determining the total malignancy score. Patent RU2547561C1 dated 10.04.2015. Available at: <https://patents.google.com/patent/RU2547561C1/en>. (In Russ.)
 15. Olek S., Schwachula T., Baron U. Method for determining cancer patient survival based on analyzing tumor infiltrating overall T-lymphocytes. Available at: <https://patents.google.com/patent/US20130260378A1/en?q=US2013260378>.
 16. Палтуев Р.М., Кудайбергенова А.Г., Семиглазов В.Ф. и др. Способ прогноза рака молочной железы. Патент RU2697709C1 от 19.08.2019. Paltuev R.M., Kudaybergenova A.G., Semiglazov V.F. et al. Method for predicting breast cancer. Patent RU2697709C1 dated 19.08.2019. (In Russ.)
 17. Палтуев Р.М., Кудайбергенова А.Г., Семиглазов В.Ф., Комяхов А.В. Автоматизированный анализ клеточной плотности при раке молочной железы как дополнительный способ повысить объективность и достоверность прогноза рака молочной железы. Опухоли женской репродуктивной системы 2017;13(3):12–6. DOI: 10.17650/1994-4098-2017-13-3-12-16 Paltuev R.M., Kudaybergenova A.G., Semiglazov V.F., Komyakhov A.V. Automated analysis of cell density in breast cancer as an additional way to improve the objectivity and reliability of breast cancer prognosis. *Opuholi zhenskoy reproduktivnoy systemy* = Tumors of female reproductive system 2017;13(3):12–6. (In Russ.). DOI: 10.17650/1994-4098-2017-13-3-12-16

Вклад авторов

Р.М. Палтуев: разработка дизайна исследования, сбор данных для анализа, анализ полученных данных, написание статьи;
А.Г. Кудайбергенова: проведение иммуногистохимических исследований;
В.Ф. Семиглазов, А.В. Комяхов, А.И. Целуйко: сбор данных для анализа, анализ полученных данных.

Authors' contributions

R.M. Paltuev: research design development, data collection for analysis, analysis of the data obtained, article writing;
A.G. Kudaybergenova: immunohistochemical studies;
V.F. Semiglazov, A.V. Komyakhov, A.I. Tseluyko: data collection for analysis, analysis of the data obtained.

ORCID авторов / ORCID of authors

Р.М. Палтуев / R.M. Paltuev: <https://orcid.org/0000-0002-0871-9453>
А.Г. Кудайбергенова / A.G. Kudaybergenova: <https://orcid.org/0000-0001-7797-088X>
В.Ф. Семиглазов / V.F. Semiglazov: <https://orcid.org/0000-0003-0077-9619>
А.В. Комяхов / A.V. Komyakhov: <https://orcid.org/00000-0002-6598-1669>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Funding. The study was performed without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики. Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России.

Compliance with patient rights and rules of bioethics. The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of the N.N. Petrov National Medical Research Oncology Center, Ministry of Health of Russia.

Статья поступила: 26.06.2023. Принята к публикации: 25.07.2023.

Article submitted: 26.06.2023. Accepted for publication: 25.07.2023.