

DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-47-51



# Генетические факторы прогноза неoadъювантной химиолучевой терапии при раке прямой кишки

В.А. Григоренко, Е.П. Куликов, С.А. Мерцалов, Ю.Д. Каминский, А.А. Никифоров, А.И. Судаков

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России; Россия, 390026 Рязань, ул. Высоковольтная, 9

**Контакты:** Владимир Андреевич Григоренко [moroka1695@yandex.ru](mailto:moroka1695@yandex.ru)

**Введение.** В последнее время отмечается тенденция к росту заболеваемости раком прямой кишки и снижению среднего возраста пациентов с данной патологией. Это вызывает необходимость персонализации лечения больных.

**Цель исследования** – оценить ассоциацию полиморфных вариантов некоторых генов с результатами неoadъювантной химиолучевой терапии рака прямой кишки.

**Материалы и методы.** Произведена оценка полиморфных вариантов генов *MTHFR*, *XPB*, *XRCC1*, *XRCC1*, *P53*, *VEGF*, *EGFR*, *TNF*, *CHEK2* и *MMP1* у 76 пациентов с раком прямой кишки, прошедших предоперационную химиолучевую терапию с последующим хирургическим лечением. Генотипирование выполнялось методом выделения ДНК из лейкоцитов венозной крови с последующим проведением полимеразной цепной реакции с электрофоретической схемой детекции результатов.

**Результаты.** При проведении статистического анализа ассоциации полиморфных вариантов исследуемых генов с лечебным патоморфозом была отмечена значимость гена *MMP1-1607* (1G >2G) ( $p = 0,033$ ). Также была выявлена ассоциация совместного носительства полиморфных вариантов генов *TNF* (G/A) и *MMP1* (2G/2G с лечебным патоморфозом III–IV степени) ( $p = 0,007$ ).

**Заключение.** Носительство рецессивного аллеля гена *MMP1* может служить предиктором благоприятного прогноза предоперационной химиолучевой терапии у пациентов с раком прямой кишки.

**Ключевые слова:** рак прямой кишки, полиморфизм генов, колоректальный рак, неoadъювантная химиолучевая терапия

**Для цитирования:** Григоренко В.А., Куликов Е.П., Мерцалов С.А. и др. Генетические факторы прогноза неoadъювантной химиолучевой терапии при раке прямой кишки. Успехи молекулярной онкологии 2021;8(2):47–51. DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-47-51.

## Genetic prognostic factors for neoadjuvant chemoradiotherapy for colorectal cancer

V.A. Grigorenko, E.P. Kulikov, S.A. Mertsalov, Yu.D. Kaminsky, A.A. Nikiforov, A.I. Sudakov

I.P. Pavlov Ryazan State Medical University, Ministry of Health of Russia; 9 Vysokovoltynaya St., 390026 Ryazan, Russia

**Contacts:** Vladimir Andreevich Grigorenko [moroka1695@yandex.ru](mailto:moroka1695@yandex.ru)

**Introduction.** There has been a recent trend toward a gradual increase in the incidence of rectal cancer and a decrease in the average age of patients. These changes interpret the need to personalize treatment in each case.

**Objective** – to evaluate the association of polymorphic variants of some genes with the results of neoadjuvant chemoradiotherapy of rectal cancer.

**Materials and methods.** We analyzed polymorphic variants of *MTHFR*, *XPB*, *XRCC1*, *XRCC1*, *P53*, *VEGF*, *EGFR*, *TNF*, *CHEK2* and *MMP1* genes in 76 patients with rectal cancer who underwent preoperative chemoradiation therapy followed by surgical treatment. Genotyping was performed by DNA isolation from venous blood leukocytes of the subjects followed by polymerase chain reaction with electrophoretic detection of the result.

**Results.** Statistical analysis of the association of polymorphic variants of the studied genes with the treatment pathomorphosis revealed significance in relation to the *MMP1-1607* gene (1G >2G) ( $p = 0.033$ ). There was also an association of co-carrying polymorphic variants of *TNF* (G/A) + *MMP1* (2G/2G) genes with grade III–IV therapeutic pathomorphosis ( $p = 0.007$ ).

**Conclusion.** Carriage of recessive allele of *MMP1* gene can be a predictor of favorable prognosis of preoperative chemoradiotherapy in patients with rectal cancer.

**Key words:** rectal cancer, gene polymorphism, colorectal cancer, neoadjuvant chemoradiotherapy

**For citation:** Grigorenko V.A., Kulikov E.P., Mertsalov S.A. et al. Genetic prognostic factors for neoadjuvant chemotherapy for colorectal cancer. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2021;8(2):47–51. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-47-51.

## ВВЕДЕНИЕ

Колоректальный рак является одной из самых распространенных злокачественных опухолей в мире. Сегодня в понятие «колоректальный рак» входят опухоли ободочной и прямой кишки [1, 2].

С каждым годом в Российской Федерации регистрируется свыше 75 тыс. новых случаев колоректального рака, большинство из них приходится на рак прямой кишки (РПК). В структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями населения нашей страны он занимает 5-е место среди мужчин и 4-е – среди женщин.

По данным А.Д. Каприна и соавт., в последнее десятилетие наблюдается тенденция к постепенному росту заболеваемости РПК, что связано с модификацией факторов риска, изменением образа жизни современного человека. В последнее время отмечается уменьшение среднего возраста заболевших, что подчеркивает социальную значимость данной проблемы [3].

К настоящему моменту разработан определенный стандарт лечения РПК, предполагающий применение неoadъювантной химиолучевой терапии (ХЛТ) у пациентов с местно-распространенным РПК стадий T<sub>любое</sub> N12M0 (рак ниже- и среднеампулярного отделов прямой кишки), T24N0M0 (рак нижеампулярного отдела прямой кишки), T3c4N0M0 (рак среднеампулярного отдела прямой кишки), T<sub>любое</sub> N2M0, T4bN02M0 (рак верхнеампулярного отдела прямой кишки) с последующим хирургическим лечением и адъювантной химиотерапией в зависимости от результатов предоперационной ХЛТ [4–7].

В настоящее время проводятся исследования, посвященные выявлению взаимосвязи колоректального рака с генетическими особенностями пациентов [8, 9]. Однако факторы и методы, которые позволили бы спрогнозировать ответ опухоли на предоперационное лечение еще до его начала, до сих пор четко не определены. D. Dayde и соавт. предложили использовать ряд биомаркеров, позволяющих персонализировано подходить к лечению пациентов с РПК. В свою очередь, авторы обозначили значимость исследования однонуклеотидных полиморфизмов [10].

**Цель исследования** – оценка ассоциации полиморфных вариантов некоторых генов с результатами неoadъювантной ХЛТ РПК.

Были поставлены следующие задачи:

- оценить полиморфные варианты генов *MTHFR* (Ala222Val), *XPB* (Lis751Gln), *XRCC1* (Arg194Trp), *XRCC1* (Arg399Gln), *P53* (Pro47Ser), *VEGF* (C654G), *EGFR* (A2073T), *TNF* (G308A), *CHEK2* (Ile157Thr) и *MMP1-1607* (1G >2G) у пациентов с РПК, полу-

чивших комбинированное лечение (неoadъювантную ХЛТ и хирургическое лечение);

- выявить ассоциацию полиморфных вариантов генов *MTHFR* (Ala222Val), *XPB* (Lis751Gln), *XRCC1* (Arg194Trp), *XRCC1* (Arg399Gln), *P53* (Pro47Ser), *VEGF* (C654G), *EGFR* (A2073T), *TNF* (G308A), *CHEK2* (Ile157Thr) и *MMP1-1607* (1G >2G) с лечебным патоморфозом.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на базе Рязанского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова Минздрава России и Областного клинического онкологического диспансера Рязанской области.

Проводилось генотипирование, направленное на определение полиморфных вариантов следующих генов: *MTHFR* (Ala222Val), *XPB* (Lis751Gln), *XRCC1* (Arg194Trp), *XRCC1* (Arg399Gln), *P53* (Pro47Ser), *VEGF* (C654G), *EGFR* (A2073T), *TNF* (G308A), *CHEK2* (Ile157Thr), *MMP1-1607* (1G >2G).

Определение генотипа выполнялось на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории Рязанского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова Минздрава России методом выделения ДНК из лейкоцитов венозной крови обследуемых с последующим проведением полимеразной цепной реакции с электрофоретической схемой детекции результата (тест-система «SNP-экспресс», НПФ «Литех», Россия).

Критериями включения в исследование служили: локализация опухоли в прямой кишке; верифицированный диагноз «рак прямой кишки»; полноценная предоперационная ХЛТ (курс дистанционной конформной лучевой терапии в комбинации с химиотерапией фторпиримидинами; лучевая терапия (разовая очаговая доз – 1,8–2 Гр; суммарная очаговая доза (СОД) – 44 Гр на зоны регионарного метастазирования; СОД на первичную опухоль – 50–54 Гр)); хирургическое лечение после неoadъювантного этапа в сроки от 6 до 12 нед; оценка лечебного патоморфоза в операционном материале по Г.А. Лавниковой.

Критерии исключения из исследования: локализация опухоли в других отделах толстого кишечника; неполноценная предоперационная ХЛТ; нарушение сроков хирургического лечения; невозможность оценки лечебного патоморфоза в послеоперационном материале; проведение химиотерапии на неoadъювантном этапе перед или после ХЛТ.

Проведена оценка полиморфизма генов у 76 больных РПК. В дальнейшем в соответствии с представленными критериями было отобрано 44 пациента:

из них 20 (45,5 %) женщин и 24 (54,5 %) мужчины. Средний возраст больных в исследуемых группах составил 59 лет.

Диагноз верифицирован у 100 % пациентов. Гистологически все опухоли были представлены аденокарциномами, преимущественно умеренной дифференцировки (G2, 70,5 %).

Распределение пациентов по стадиям в соответствии с классификацией Tumor, Nodus and Metastasis 8-го пересмотра: у 8 пациентов – I стадия, у 14 – II стадия, у 17 – III стадия и у 5 – IV стадия.

Хирургическое пособие оказывалось в объеме передней резекции, низкой передней резекции и брюшно-промежностной экстирпации прямой кишки с частичной или тотальной мезоректумэктомией.

Пациенты были разделены на 2 группы: со слабым ответом на ХЛТ (лечебный патоморфоз I–II степени) – 24 больных и с выраженным эффектом (лечебный патоморфоз III–IV степени) – 20 больных.

Статистическая обработка результатов выполнялась с помощью программы Excel 2010 (MS, США), а также онлайн-калькуляторов (<https://medstatistic.ru/calculators.html>). Описание и сравнение различий качественных признаков в независимых группах проводились с использованием критерия  $\chi^2$  Пирсона. При анализе статистически значимыми считались различия при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

По гендерному и возрастному признакам различий в исследуемых группах ( $p > 0,05$ ) выявлено не было.

В ходе статистического анализа ассоциации наличия полиморфных вариантов исследуемых генов с уровнем лечебного патоморфоза была получена значимость в отношении гена *MMP1-1607* (1G > 2G) (табл. 1).

**Таблица 1.** Ассоциация между наличием полиморфных вариантов гена *MMP1* и степенью лечебного патоморфоза ( $n = 44$ )

**Table 1.** Association between the presence of polymorphic variants of the *MMP1* gene and the degree of therapeutic pathomorphosis ( $n = 44$ )

Генотип Genotype	Патоморфоз I–II степени Degree of pathomorphosis I–II	Патоморфоз III–IV степени Degree of pathomorphosis III–IV	$\chi^2$
1G/1G	3	0	$p = 0,033$
1G/2G	15	8	
2G/2G	6	12	

В отношении других генов аналогичной ассоциации получено не было ( $p > 0,05$ ) (табл. 2–5).

В ходе дальнейшего анализа была выявлена ассоциация совместного носительства полиморфных вариантов генов *TNF* (G/A) и *MMP1* (2G/2G) со степенью лечебного патоморфоза III–IV степени (табл. 6).

**Таблица 2.** Ассоциация между наличием полиморфных вариантов генов *XPB*, *XRCC1* и степенью лечебного патоморфоза ( $n = 44$ )

**Table 2.** Association between the presence of polymorphic variants of *XPB*, *XRCC1* genes and the degree of therapeutic pathomorphosis ( $n = 44$ )

Генотип Genotype	Патоморфоз I–II степени Degree of pathomorphosis I–II	Патоморфоз III–IV степени Degree of pathomorphosis III–IV	$\chi^2$
<b><i>XPB</i> (Lis751Gln)</b>			
Lis/Lis	3	8	$p > 0,05$
Lis/Gln	11	6	
Gln/Gln	10	6	
<b><i>XRCC1</i> (Arg194Trp)</b>			
Arg/Arg	19	12	$p > 0,05$
Arg/Trp	5	8	
Trp/Trp	0	0	
<b><i>XRCC1</i> (Arg399Gln)</b>			
Arg/Arg	7	2	$p > 0,05$
Arg/Gln	17	17	
Gln/Gln	0	1	

**Таблица 3.** Ассоциация между наличием полиморфных вариантов генов *CHEK2*, *MTHFR* и степенью лечебного патоморфоза ( $n = 44$ )

**Table 3.** Association between the presence of polymorphic variants of *CHEK2*, *MTHFR* genes and the degree of therapeutic pathomorphosis ( $n = 44$ )

Генотип Genotype	Патоморфоз I–II степени Degree of pathomorphosis I–II	Патоморфоз III–IV степени Degree of pathomorphosis III–IV	$\chi^2$
<b><i>CHEK2</i> (Ile157Thr)</b>			
Ile/Ile	19	15	$p > 0,05$
Ile/Thr	4	5	
Thr/Thr	1	0	
<b><i>MTHFR</i> (Ala222Val)</b>			
Ala/Ala	8	8	$p > 0,05$
Ala/Val	14	10	
Val/Val	2	2	

## ОБСУЖДЕНИЕ

Носительство минорного аллеля гена *MMP1* совместно с гетерозиготным аллелем гена *TNF*, по-видимому, связано с лучшим эффектом предоперационной ХЛТ. Вероятно, это вызвано индуцирующим влиянием цитокина TNF $\alpha$  на матриксные металлопротеиназы, кодируемые геном *MMP1*, которые дестабилизируют

**Таблица 4.** Ассоциация между наличием полиморфных вариантов генов *VEGF*, *EGFR* и степенью лечебного патоморфоза ( $n = 44$ )

**Table 4.** Association between the presence of polymorphic variants of *VEGF*, *EGFR* genes and the degree of therapeutic pathomorphosis ( $n = 44$ )

Генотип Genotype	Патоморфоз I–II степени Degree of pathomorphosis I–II	Патоморфоз III–IV степени Degree of pathomorphosis III–IV	$\chi^2$
<b><i>VEGF</i> (C654G)</b>			
C/C	3	8	$p > 0,05$
C/G	15	8	
G/G	6	4	
<b><i>EGFR</i> (A2073T)</b>			
A/A	3	1	$p > 0,05$
A/T	12	11	
T/T	9	7	

**Таблица 5.** Ассоциация между наличием полиморфных вариантов генов *P53*, *TNF* и степенью лечебного патоморфоза ( $n = 44$ )

**Table 5.** Association between the presence of polymorphic variants of *P53*, *TNF* genes and the degree of therapeutic pathomorphosis ( $n = 44$ )

Генотип Genotype	Патоморфоз I–II степени Degree of pathomorphosis I–II	Патоморфоз III–IV степени Degree of pathomorphosis III–IV	$\chi^2$
<b><i>TNF</i> (G308A)</b>			
G/G	12	5	$p > 0,05$
G/A	12	15	
A/A	0	0	
<b><i>P53</i> (Pro47Ser)</b>			
Pro/Pro	19	16	$p > 0,05$
Pro/Ser	5	4	
Ser/Ser	0	0	

межклеточный матрикс и способствуют более глубокому и обширному распространению повреждающего воздействия ионизирующего излучения в совокупности с применением радиомодификатора. Это, в свою оче-

**Таблица 6.** Ассоциация между одновременным наличием полиморфных вариантов генов *TNF* (G/A) и *MMP1* (2G/2G) и эффективностью химиолучевой терапии

**Table 6.** Association between simultaneous presence of *TNF* (G/A) and *MMP1* (2G/2G) polymorphic gene variants and efficacy of chemoradiotherapy

Генотип Genotype	Патоморфоз I–II степени Degree of pathomorphosis I–II	Патоморфоз III–IV степени Degree of pathomorphosis III–IV	$\chi^2$
<i>TNF</i> (G/A) + <i>MMP1</i> (2G/2G)	3	10	$p = 0,007$
Другие варианты Other options	21	10	

редь, проявляется в виде обширного некроза опухолевых клеток, о котором свидетельствует лечебный патоморфоз III–IV степени по Г.А. Лавниковой. Несмотря на отсутствие статистической значимости, у пациентов с доминантным гомозиготным аллелем гена *CHEK2* наблюдается тенденция к увеличению степени лечебного патоморфоза после ХЛТ по сравнению с пациентами, несущими полиморфный вариант гена. Это может быть связано с небольшой выборкой больных.

Поиск новых и углубленное изучение уже описанных биомаркеров позволит увеличить эффективность неoadьювантной ХЛТ у пациентов с РПК и персонализировать лечение данного заболевания.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обнаружены статистически значимая ассоциация носительства рецессивного полиморфного варианта гена *MMP1-1607* (1G > 2G), а также его носительство в совокупности с гетерозиготным аллелем гена *TNF* (G308A) с лучшим ответом на предоперационное лечение. Это позволяет использовать выявление полиморфных вариантов этих генов для персонализации лечения больных РПК.

По результатам исследования был получен патент № 2732336 «Способ прогнозирования эффективности неoadьювантной ХЛТ при аденокарциноме прямой кишки».

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). М., 2019. 250 с. [Kaprin A.D., Starinskii V.V., Petrova G.V. Malignant tumors of Russia in 2018 (morbidity and mortality). Moscow, 2019. 250 p. (In Russ.).]
- American Cancer Society. Colorectal Cancer Facts & Figures 2017–2019. Atlanta, Ga: American Cancer Society, 2017.
- Федоров В.Э., Поделякин К.А. Эпидемиологические аспекты колоректального рака. Медицинский альманах 2017;4(49):145–8. [Fedorov V.E., Podelyakin K.A. Epidemiological aspects of colorectal cancer. Medicinskij

- al'manah = Medical almanac 2017;4(49):145–8. (In Russ.).
- Babaei M., Jansen L., Balavarca Y. et al. Neoadjuvant therapy in rectal cancer patients with clinical stage II to III across European countries: Variations and Outcomes. *Clin Colorectal Cancer* 2018;17(1):e129–e142. DOI: 10.1016/j.clcc.2017.09.002.
  - Abraha I., Aristei C., Palumbo I. et al. Preoperative radiotherapy and curative surgery for the management of localised rectal carcinoma. *Cochrane Database Syst Rev* 2018;10(10):CD002102. DOI: 10.1002/14651858.CD002102.pub3.
  - Petrelli F., Coiru A., Lonati V. et al. A systematic review and meta-analysis of adjuvant chemotherapy after neoadjuvant treatment and surgery for rectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2015;30(4):447–57. DOI: 10.1007/s00384-014-2082-9.
  - Breugom A.J., van Gijn W., Muller E.W. et al. Adjuvant chemotherapy for rectal cancer patients treated with preoperative (chemo)radiotherapy and total mesorectal excision: a Dutch Colorectal Cancer Group (DCCG) randomized phase III trial. *Ann Oncol* 2015;26(4):696–701. DOI: 10.1093/annonc/mdu560.
  - Куликов Е.П., Мерцалов С.А., Никифоров А.А. и др. Полиморфизм гена *XPD* при колоректальном раке. *Наука молодых (Eruditio Juvenium)* 2019;7(3):340–8. [Kulikov E.P., Mertsalov S.A., Nikiforov A.A. et al. Polymorphism of *XPD* gene in colorectal cancer. *Nauka molodyh (Eruditio Juvenium) = Science of the young (Eruditio Juvenium)* 2019;7(3):340–8. (In Russ.)]. DOI: 10.23888/HMJ201973340-348.
  - Куликов Е.П., Судаков А.И., Никифоров А.А. и др. Значение полиморфизма генов в развитии колоректального рака. *Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова* 2020;28(2):127–34. [Kulikov E.P., Sudakov A.I., Nikiforov A.A. et al. Significance of gene polymorphism in development of colorectal cancer. *Rossiiskij mediko-biologicheskij vestnik im. akademika I.P. Pavlova = I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald* 2020;28(2):127–34. (In Russ.)]. DOI: 10.23888/PAVLOVJ2020282127-134.
  - Daye D., Tanaka I., Jain R. et al. Predictive and prognostic molecular biomarkers for response to neoadjuvant chemoradiation in rectal cancer. *Int J Mol Sci* 2017;18(3):573. DOI: 10.3390/ijms18030573.

#### Вклад авторов

В.А. Григоренко: работа с пациентами, сбор лабораторного материала, работа с первичным материалом, проведение статистического анализа, анализ литературы, оформление работы, формулировка выводов;  
 Е.П. Куликов: постановка целей и задач, работа с пациентами, работа с первичным материалом, проведение статистического анализа, анализ литературы, формулировка выводов, научное редактирование;  
 С.А. Мерцалов: работа с пациентами, работа с первичным материалом, сбор лабораторного материала, проведение статистического анализа, формулировка выводов;  
 Ю.Д. Каминский: работа с пациентами, работа с первичным материалом, проведение статистического анализа, формулировка выводов;  
 А.И. Судаков: работа с пациентами, работа с первичным материалом, сбор лабораторного материала, проведение статистического анализа;  
 А.А. Никифоров: сбор лабораторного материала, работа с первичным материалом, проведение лабораторных исследований.

#### Authors' contribution

V.A. Grigorenko: work with patients, collection of laboratory material, work with primary material, statistical analysis, literature analysis, design of the work, formulation of conclusions;  
 E.P. Kulikov: setting goals and objectives, working with patients, working with primary material, conducting statistical analysis, analyzing the literature, drawing conclusions;  
 S.A. Mertsalov: working with patients, working with primary material, collecting laboratory material, conducting statistical analysis, drawing conclusions;  
 Yu.D. Kaminsky: working with patients, working with primary material, conducting statistical analysis, drawing conclusions;  
 A.I. Sudakov: working with patients, working with primary material, collecting laboratory material, conducting statistical analysis;  
 A.A. Nikiforov: collecting laboratory material, working with primary material, conducting laboratory research.

#### ORCID авторов / ORCID of authors

В.А. Григоренко / V.A. Grigorenko: <https://orcid.org/0000-0002-4664-5723>  
 Е.П. Куликов / E.P. Kulikov: <https://orcid.org/0000-0003-4926-6646>  
 С.А. Мерцалов / S.A. Mertsalov: <https://orcid.org/0000-0002-8804-3034>  
 Ю.Д. Каминский / Yu.D. Kaminsky: <https://orcid.org/0000-0001-8785-3687>  
 А.И. Судаков / A.I. Sudakov: <https://orcid.org/0000-0002-6791-9797>  
 А.А. Никифоров / A.A. Nikiforov: <https://orcid.org/0000-0002-7364-7687>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.  
**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Исследование проведено при поддержке ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России.  
**Financing.** The study was performed with the support of I.P. Pavlov Ryazan State Medical University, Ministry of Health of Russia.

**Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики.** Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом Рязанского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова Минздрава России (протокол № 5 от 06.11.2015). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.  
**Compliance with patient rights and principles of bioethics.** The study protocol was approved by the local ethics committee of I.P. Pavlov Ryazan State Medical University, Ministry of Health of Russia (protocol No 5 of 06.11.2015). All patients gave written informed consent to participate in the study.

**Статья поступила:** 21.04.2021. **Принята к публикации:** 10.06.2021.  
**Article submitted:** 21.04.2021. **Accepted for publication:** 10.06.2021.