

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ КЛИНИЧЕСКИМИ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИМИ ЗНАЧЕНИЯМИ ПРИ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ (КРР)

Арипова Т.У.*, Хакимов Г.А., Ниязалиев У.Ш., Исмаилова А.А.*

Институт иммунологии и геномики человека АН РУз *,
Ташкентский городской филиал РСНПМЦО МЗ РУз

ХУЛОСА

Колоректал сараторон касаллигининг IV (КРСК) босқичидаги ва кимёттерапия қабул қилаетган беморларда иммунорегулятор CD25, CD28, CD80, CD86, CD274 ва CD279 гликопротеинларнинг экспрессияси ва қон зардобида ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-15 ва ТФР β ларнинг миқдори ўзгаради. КРСК метастатик шикастланишилар бор пациентларда CD8+ Т-лимфоцитлар ва NK- ҳужайралар сони соглом шахсларга нисбатан пасайган. Ушибу молекулаларни комбинацияланган таҳлили КРСК биомаркерларнинг потенциал панелини намоен этиши мумкин. КРСКда иммунологик параметрлар ўзгаришилигини ўрганиши неоплазияда қатнашувчи потенциал иммуномилларни излашида муҳим йўналланиши демакдир. Адабиет маълумотларини шарҳлаш натижасида цитокинлар КРСКда уни пайдо бўлиши, ривожланиши ва тарқалишига мураккаб тизимлаш ўзаро таъсирини кўрсатади. Цитокинлар, транскрипциявий омиллар, иммун ва стромал ҳужайралар кенг спектри ушибу тизимнинг пойдевор компоненти деб ҳисобланади.

Калит сўзлар: колоректал сараторон касаллиги, биомаркерлар, клиник боғланишилар, цитокинлар.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Колоректальный рак (КРР) является одной из основных причин смертности во всем мире. Его заболеваемость занимает важное место среди наиболее распространенных заболеваний, представляющих угрозу для жизни [17,20]. Следовательно, раннее выявление и точная характеристика активности заболевания на основе соответствующих биомаркеров имеют первостепенное значение для терапевтической стратегии и выживаемости пациентов. Выявление новых биомаркеров колоректального рака или специфичных для заболевания уровней/комbinations биомаркеров внесет значительный вклад в точную диагностику и улучшение персонализированного лечения пациентов. Известно, что повышенная инфильтрация воспалительных клеток коррелирует с улучшением выживаемости при колоректальном раке (КРР) [1,2,5,9]. Развитие и прогрессирование КРР связано с изменениями уровней цитокинов, но их значимость недостаточно определена и изучена [3,11,14].

Связь между воспалением и канцерогенезом была установлена на основе сообщений о влиянии воспалительных цитокинов на рост

SUMMARY

In patients with stage IV colorectal cancer (CRC) undergoing chemotherapy, the expression of immunoregulatory glycoproteins CD25, CD28, CD80, CD86, CD274, and CD279, as well as the plasma levels of IL-1 β , IL-2, IL-15, and TGF- β , are altered. The number of CD8+ T lymphocytes and NK cells is reduced in CRC patients with metastatic disease compared to healthy individuals. A combined analysis of these molecules may represent a potential biomarker panel for CRC. Therefore, the study of immunological parameters in colorectal cancer (CRC) is an important step in identifying potential immune factors involved in neoplasia. A review of the literature indicates that cytokines influence the initiation, progression, and metastasis of colorectal cancer (CRC) through a complex system of interactions. A broad spectrum of cytokines, transcription factors, immune, and stromal cells constitutes a fundamental component of this system.

Keywords: colorectal cancer; biomarkers, clinical correlations, cytokines.

и прогрессирование опухоли [3,7]. Известно, что воспаление способствует развитию КРР, а циркулирующие цитокины могут регулировать иммунный ответ в микроокружении опухоли [13,18]. Тонкий баланс между провоспалительными и противовоспалительными цитокинами играет решающую роль в гомеостазе организма. Если он нарушен, может развиться КРР [7]. Аберрантная экспрессия цитокинов вызывает воспаление при КРР и приводит к иммуносупрессии, резистентности к терапии и метастазированию во время прогрессирования КРР [6,14]. Значительные различия в профиле цитокинов у групп пациентов с КРР по сравнению со здоровыми контрольными группами были показаны в ряде исследований [3,9,15,19].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

В данном исследовании изучили сывороточные уровни нескольких цитокинов, связанных с патогенезом КРР, и экспрессию иммуномодулирующих маркеров на периферических лейкоцитах у пациентов с КРР с прогрессированием заболевания на IV стадии по сравнению со здоровыми контрольными лицами, а также их специфические корреляции с

КРР. Интересным было изучить взаимосвязь между цитокинами и воспалительными клетками иммунной системы, инфильтрирующих опухоль, и их влияние на безрецидивную выживаемость (БВ), раковоспецифическую выживаемость (РСВ) и общую выживаемость (ОВ) у пациентов с КРР.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследовании приняли участие две группы пациентов, это 20 пациентов КРР IV стадии, проходящих химиотерапию и регулярное медицинское обследование (возрастной диапазон 45–80 лет), и 23 здоровый доброволец (возрастной диапазон 40–72 года). Забор крови проводился в соответствии с Кодексом этики Всемирной медицинской ассоциации (Хельсинкская декларация). Все участники были проинформированы о целях исследования и подписали письменное согласие перед сбором образцов. У всех участников исследования была получена венозная кровь и собрана в пробирки BD Vacutainer® K2 EDTA (Becton, Dickinson, США). Образцы центрифугировали при 1000× g в течение 15 минут. Затем плазму отделяли от клеточного осадка и хранили при температуре -20 °C до анализа уровня цитокинов. Осадок клеток крови подвергали дальнейшей обработке для выделения лейкоцитов. Для оценки уровня цитокинов в образцах плазмы крови использовали наборы ИФА для ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-15, TGF β 1, ИФН γ (наборы Вектор – Бест, РФ). Анализы проводили согласно протоколу, предоставленному производителем. Измерения оптической плотности (ОП) проводили на спектрофотометре SpectraMax i3x. Значение ОД для каждого образца корректировалось по холостому раствору и использовалось для расчета концентрации цитокинов на основе стандартной кривой, которая включала 6 различных концентраций измеряемого цитокина (для IL-1 β , IL-2, IL-10, IL-12, IL-15, TGF β 1 и IFN γ). Анализ методом проточной цитометрии проводили мечеными флуоресцентом, специфичными к маркерам CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD25, CD28, CD56, CD152, CD273, CD274 и CD279 (BD Pharmingen™, BD Biosciences, Франклин Лейкс, США), в течение 20 минут в темноте. Применены программы StatView 5.0 (SAS Institute Inc., Кэри). При значении $p < 0,05$ результаты считались статистически значимыми. Данное исследование направлено на выявление специфичных для КРР иммунологических биомаркеров.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Так, были выявлены сильные положительные корреляции между концентрациями различных изучаемых цитокинов, а также между различными типами иммунных клеток, инфильтрирующих опухоль, тогда как ассоциации между цитокинами и иммунными клетками, инфильтрирующими опухоль, в целом были слабыми. Высокие уровни ИЛ-12 связаны с повышенной плотностью перитуморальных CD8+ Т-клеток, интраэпителиальных CD3+ Т-клеток

и интратуморальных нейтрофилов, в то время как высокие уровни сывороточного CCL4 связаны с повышенной плотностью перитуморальных CD68+ клеток [10,12]. В многофакторных моделях выживаемости повышенная инфильтрация интраэпителиальных CD3+ Т-клеток и повышенный уровень сывороточного CCL4 связаны с улучшением DFS, тогда как более высокая плотность интратуморальных CD83+ дендритных клеток и повышенные уровни сывороточного интерферона гамма связаны с улучшением CSS и OS [12,20]. Также высокая плотность перитуморальных CD3+ Т-клеток связана с улучшением CSS [13,19]. Усиление инфильтрации воспалительными клетками коррелирует с улучшением выживаемости при КРР. С другой стороны, развитие и прогрессирование КРР связано с изменениями уровня сывороточных цитокинов, однако их значимость до конца не определена. Была оценена взаимосвязь и клиническое влияние инфильтрирующих опухоль иммунных клеток и сывороточных цитокинов при КРР. Результаты показывают, что сывороточные цитокины и инфильтрирующие опухоль иммунные клетки при КРР представляют собой группы с высокой внутригрупповой, но относительно слабой межгрупповой корреляцией. Анализ выявил несколько потенциально клинически значимых прогностических маркеров, включая CD3+ Т-клетки, CD83+ дендритные клетки, сывороточный CCL4 и сывороточный IFN- γ . КРР является гетерогенным типом заболевания [20], и, по-прежнему существует потребность в более специфичных биомаркерах, которые облегчат выбор лечения, особенно для пациентов с запущенным метастатическим заболеванием, улучшая качество их жизни и общую выживаемость. Иммунная система играет важную роль в борьбе с раковыми клетками [11,13], и иммунологические исследования предоставили ключевые стратегии для новых методов лечения рака. Следовательно, разумно предположить, что экспрессия молекул поверхности иммунных клеток и циркулирующих сигнальных молекул (цитокинов) с отклонениями в их уровнях могут дать новое понимание открытия биомаркеров заболеваний. КРР характеризуется сильным воспалительным компонентом; заболевание часто развивается как следствие воспалительного расстройства [20]. Следовательно, цитокины и гликопротеины поверхности иммунных клеток являются потенциальными кандидатами на роль новых диагностических, предиктивных и прогностических биомаркеров. Несколько недавних исследований сообщили об измененных уровнях экспрессии различных цитокинов у пациентов с КРР [12,16,17,18]. Результаты в некоторых из них различаются для определенных интерлейкинов, что может быть связано с характеристиками пациента и контрольной группы – стадией заболевания, количеством обследованных лиц, примененной терапией и т. д. Наши результаты для уровней ИЛ-

4, ИЛ-10 и ИЛ-13 согласуются с результатами предыдущих исследований [9,14], тогда как данные об уровнях ИФН- γ различаются в разных отчетах. Однако недавнее исследование тунисской когорты показало измененные уровни ИФН- γ и ИЛ-12 в сыворотке крови [2,4], что может быть связано с более высокой изменчивостью изучаемой группы КРР. В поддержку этого предположения Ли и соавторы не выявили значительной разницы в уровнях IFN- γ между пациентами с КРР на стадии IV и здоровыми контрольными лицами, однако у пациентов с КРР на стадии IV можно было отметить тенденцию к снижению уровня цитокинов [3,8]. Мы обнаружили сниженную концентрацию IL-2, IL-15 и TGF β в группе с КРР, что ожидаемо, учитывая ранее охарактеризованное КРР-супрессивное действие этих цитокинов [8]. Что касается IL-1 β , мы получили неожиданный результат – значительно более низкую концентрацию цитокинов в плазме в группе КРР по сравнению с контрольной группой. Однако различные результаты не сообщали об отсутствии разницы в уровнях IL-1 β в сыворотке между пациентами с CRC и здоровыми людьми [14]. Значительно сниженная концентрация ИЛ-1 β в плазме в нашей группе с КРР могла быть спровоцирована общим иммунологическим состоянием пациентов. Для подтверждения этой гипотезы необходимы дополнительные исследования, но, принимая во внимание наши результаты иммунофенотипирования, можно заключить, что у пациентов с КРР преобладают подавление и/или истощение иммунного ответа. Фактором, способствующим этому состоянию, является химиотерапевтическое лечение пациентов. Популяции NK-клеток и CD8 Т-лимфоцитов были заметно снижены в группе CRC. Это означает снижение первой и второй линий противоопухолевого иммунитета. Кроме того, популяции активированных CD25 + лимфоцитов и CD28 + Т-клеток были значительно снижены, что предполагает снижение активации лимфоцитов.

ВЫВОДЫ

У пациентов с КРР IV стадии, получающих химиотерапию, изменяется экспрессия иммунорегуляторных гликопротеинов CD25, CD28, CD80, CD86, CD274 и CD279, а также уровни ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-15 и ТФР β в плазме крови. Количество Т-лимфоцитов CD8+ и NK-клеток снижено у пациентов с КРР с метастатическим поражением по сравнению со здоровыми людьми. Комбинированный анализ этих молекул может представлять собой потенциальную панель биомаркеров КРР. Следовательно, изучение поведения иммунологических параметров при ККР является важным действием поиска потенциальных иммунных факторов, участвующих в неоплазии. Обзор литературных данных свидетельствует о том, что цитокины влияют на инициацию, развитие и метастазирование ККР через сложную систему взаимодействий. Широкий спектр цитокинов, транскрипционных факторов, иммунных и стромальных клеток

является фундаментальным компонентом этой системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Alves Martins B.A., de Bulhoes G.F., Cavalcanti I.N., Martins M.M., de Oliveira P.G., Martins A.M.A. Biomarkers in Colorectal Cancer: The Role of Translational Proteomics Research. *Front. Oncol.* 2019;9:1284.
2. Ahmed M.H., Hernandez-Verdin I., Bielle F., Verreault M., Lerond J., Alentorn A., Sanson M., Idbaih A. Expression and Prognostic Value of CD80 and CD86 in the Tumor Microenvironment of Newly Diagnosed Glioblastoma. *Can. J. Neurol. Sci.* 2023;50:234–242.
3. Braumüller H., Mauerer B., Andris J., Berlin C., Wieder T., Kesselring R. The Cytokine Network in Colorectal Cancer: Implications for New Treatment Strategies. *Cells.* 2023;12:138.
4. Ismael A., Jabbar S. Expressions of CD80 and CD86 in Cancer Patients and Its Prognostic Significance. *J. Pioneer. Med. Sci.* 2024;13:160–163.
5. Farc O., Berindan-Neagoe I., Zaharie F., Budisan L., Zanoaga O., Cristea V. A role for serum cytokines and cell adhesion molecules in the non-invasive diagnosis of colorectal cancer. *Oncol. Lett.* 2022;24:323.
6. Luo X.J., Zhao Q., Liu J., Zheng J.B., Qiu M.Z., Ju H.Q., Xu R.H. Novel Genetic and Epigenetic Biomarkers of Prognostic and Predictive Significance in Stage II/III Colorectal Cancer. *Mol. Ther. J. Am. Soc. Gene Ther.* 2021;29:587–596.
7. Li W., Chen F., Gao H., Xu Z., Zhou Y., Wang S., Lv Z., Zhang Y., Xu Z., Huo J., et al. Cytokine concentration in peripheral blood of patients with colorectal cancer. *Front. Immunol.* 2023;14:1175513.
8. Mager L.F., Wasmer M.H., Rau T.T., Krebs P. Cytokine-Induced Modulation of Colorectal Cancer. *Front. Oncol.* 2016;6:96.
9. Maryam S., Krukiewicz K., Haq I.U., Khan A.A., Yahya G., Cavalu S. Interleukins (Cytokines) as Biomarkers in Colorectal Cancer: Progression, Detection, and Monitoring. *J. Clin. Med.* 2023;12:3127.
10. Molon B., Liboni C., Viola A. CD28 and chemokine receptors: Signalling amplifiers at the immunological synapse. *Front. Immunol.* 2022;13:938004.
11. Siegel R.L., Miller K.D., Fuchs H.E., Jemal A. Cancer statistics, 2022. *CA A Cancer J. Clin.* 2022;72:7–33.
12. Zhang Y., Wang Y., Zhang B., Li P., Zhao Y. Methods and biomarkers for early detection, prediction, and diagnosis of colorectal cancer. *Biomed. Pharmacother.* 2023;163:114786.
13. Vacante M., Ciuni R., Basile F., Biondi A. The Liquid Biopsy in the Management of Colorectal Cancer: An Overview. *BioMedicines.* 2020;8:308.
14. Song X., Traub B., Shi J., Kornmann M. Possible Roles of Interleukin-4 and -13 and Their Receptors in Gastric and Colon Cancer. *Int. J. Mol. Sci.*

- 2021;22:727.
15. Toffoli E.C., Sheikhi A., Hopner Y.D., de Kok P., Yazdanpanah-Samani M., Spanholtz J., Verheul H.M.W., van der Vliet H.J., de Gruyl T.D. Natural Killer Cells and Anti-Cancer Therapies: Reciprocal Effects on Immune Function and Therapeutic Response. *Cancers*. 2021;13:711.
 16. Van Den Eeckhout B., Tavernier J., Gerlo S. Interleukin-1 as Innate Mediator of T Cell Immunity. *Front. Immunol.* 2020;11:621931.
 17. Stayoussef M., Weili X., Habel A., Barbirou M., Bedoui S., Attia A., Omrani Y., Zouari K., Maghrebi H., Almawi W.Y., et al. Altered expression of cytokines, chemokines, growth factors, and soluble receptors in patients with colorectal cancer, and correlation with treatment outcome. *Cancer Immunol.*
 18. Zheng Z., Wieder T., Mauerer B., Schafer L., Kesselring R., Braumuller H. T Cells in Colorectal Cancer: Unravelling the Function of Different T Cell Subsets in the Tumor Microenvironment. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24:11673.
 19. Urbiola-Salvador V., Jablonska A., Miroszewska D., Huang Q., Duzowska K., Drezek-Chyla K., Zdrenka M., Srutek E., Szylberg L., Jankowski M., et al. Plasma protein changes reflect colorectal cancer development and associated inflammation. *Front. Oncol.* 2023;13:1158261.
 20. Wang H.P., Wang Y.Y., Pan J., Cen R., Cai Y.K. Evaluation of specific fecal protein biochips for the diagnosis of colorectal cancer. *World J. Gastroenterol.* 2014;20:1332–1339.

УДК:616.65-006.55+616.6-036-08

ПРЕИМУЩЕСТВА ТЕСТИРОВАНИЯ НА ПРОСТАТСПЕЦИФИЧЕСКИЙ АНТИГЕН ДЛЯ СНИЖЕНИЯ СМЕРТНОСТИ ПРИ РАКЕ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Тилляшайхов М.Н.¹, Хаккулов Э.Б.², Алимов Ж.У.³

¹ Республиканский научно-практический центр онкологии и радиологии
Министерства здравоохранения Республики Узбекистан, Ташкент,

² Ташкентская городская многопрофильная больница МЗ РУз

³ Ташкентский государственный медицинский университет

XULOSA

Prostata bezi saratonining ko'plab shakllarini aniqlashda ko'pincha qonda prostataning o'ziga xos antigen miqdorini oshishi (4 ng/ml dan yuqori) asosida amalga oshiriladi. Biroq, prostate bezi saratonini tasdiqlash uchun odatda to'qimala rbiopsiyasi o'tkaziladi. Taqdim etilgan ma'lumotlarga ko'ra, prostataning o'ziga xos antigen darajasi va prostate bezi hajmining tadqiqot guruhlari orasidagi taqsimoti aksariyat hollarda qiymat oraliqlari bo'yicha yaqin bo'lib, bu parametrlar shu nuqtai nazaridan o'r ganilgan populyatsiyalar bir xilligini ko'rsatishi mumkin.

Kalit so'zlar: prostate bezi saratoni, prostataning o'ziga xos antigen, giperfaol qovuq sindromi.

ВВЕДЕНИЕ

Рост заболеваемости в развивающихся странах, связан как с увеличением продолжительности жизни, так и с улучшением доступа к медицинской помощи. Подъём заболеваемости также обусловлен с вестернизацией образа жизни, включая ожирение, сидячий образ жизни и диетические факторы [1,2].

Глобальные переменные в заболеваемости раком простаты могут быть связаны с различиями между странами в проведении тестирования на ПСА.

SUMMARY

The diagnosis of many forms of prostate cancer is often based on the detection of elevated levels of prostate-specific antigen in the blood (above 4 ng/mL). However, to confirm the diagnosis of prostate cancer, a tissue biopsy is usually performed. The presented data indicate that the distribution of prostate-specific antigen levels and prostate volume between the study groups was comparable across most value intervals, which may suggest homogeneity of the studied populations in terms of these parameters.

Keywords: prostate cancer, prostate-specific antigen, overactive bladder syndrome.

Например, в Европе рак простаты является самым распространенным среди всех видов рака у мужчин, составляя 24% всех новых случаев в 2018 году, с оценочным числом приблизительно 450 000 новых случаев [3]. В США же рак простаты занимает второе место по распространённости, составляя 9,5% всех новых случаев рака (с 164 690 новых случаев в 2018 году). Недавние исследования показывают, что от 20 до 40% случаев рака простаты в США и Европе могут быть связаны с избыточным тестированием на