



© О.И. Кит, Е.А. Дженкова, Э.А. Мирзоян, И.А. Новикова, А.Б. Сагакянц, Е.Ю. Златник, Е.С. Бондаренко, Г.В. Каминский, С.А. Малинин, Л.Х. Чалхахян, Э.К. Алексеев, А.А. Антонян, С.Н. Димитриади

Прогностические иммунологические факторы лимфогенного метастазирования при раке ободочной кишки

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

© Oleg I. Kit, Elena A. Djenkova, Ellada A. Mirzoyan, Inna A. Novikova, Alexandr B. Sagakyants, Elena Yu. Zlatnik, Elena S. Bondarenko, Gennadiy V. Kaminsky, Sergey A. Malinin, Lusigen Kh. Chalkhakhyan, Eduard K. Alekseev, Artur A. Antonyan, Sergey N. Dimitriadi

Prognostic Immunological Factors of Lymphogenic Metastasis in Colon Cancer

National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, the Russian Federation

Введение. Корректная оценка стадии и прогноза является основой успешного лечения любой опухоли.

Цель. Оценить роль ряда иммунологических параметров локального иммунитета при раке ободочной кишки (РОК) в зависимости от распространенности процесса и на основании полученных данных разработать комплексную модель для определения вероятности лимфогенного метастазирования опухоли.

Материалы и методы. В работу включено 50 пациентов РОК: с поражением лимфатических узлов (N^+) — 27 пациентов (54 %), без поражения (N_0) — 23 пациента (46 %). Из ткани опухоли, перитуморальной зоны (1–3 см от опухоли), линии резекции (~10 см от опухоли) была получена клеточная суспензия для выявления основных субпопуляций лимфоцитов, а также определения экспрессии TLRs (2, 3, 4) на $CD45^+$ (лимфоцитах), $CD45$ -EpCAM⁺ (эпителиальные клетки). Статистический анализ результатов исследования проводился с помощью программы STATISTICA 13.3.

Результаты. В тканях опухоли у пациентов с N_0 увеличено количество Т-лимфоцитов, натуральных киллеров (NK). В перитуморальной зоне при N_0 отмечено более низкое содержание $CD19^+$, а при N^+ — двойных позитивных лимфоцитов (ДП), NK ($p < 0,05$). Для тканей опухолей группы N_0 , в отличие от N^+ , характерно уменьшение количества опухолевых клеток, экспрессирующих TLR3. В перитуморальной зоне обеих групп отмечено разнонаправленное изменение количества клеток, которые экспрессируют TLR2: уменьшение — при N_0 , увеличение — при N^+ ($p < 0,05$). При анализе относительного количества лимфоцитов во фрагментах тканей первичных опухолей пациентов с N_0 отмечено уменьшение относительного количества клеток, экспрессирующих TLR2, и увеличение экспрессирующих TLR3,4, а для пациентов N^+ отмечено увеличение количества клеток, которые экспрессируют TLR4 в 2,5 раз ($p < 0,05$). С помощью метода логистической регрессии была разработана комплексная модель для определения вероятности лимфогенного метастазирования РОК. Индивидуальные значения пациентов подставляются в математическую модель и рассчитывается вероятность N^+ (диагностическая чувствительность — 89,1 %, специфичность — 88,2 %).

Introduction. Correct assessment of stage and prognosis is the basis for successful treatment of any tumor.

Aim. To evaluate the role of immunological parameters of local immunity in colon cancer (CRC) and to develop a complex model for determining the probability of lymphogenic metastasis of the tumor based on the prevalence of the process.

Materials and Methods. The study included 50 patients with CRC, of whom 27 (54 %) had lymph node involvement (N^+) and 23 (46 %) had no involvement (N_0). Cell suspensions were obtained from tumor tissue, the peritumor zone (1–3 cm from the tumor) and the resection line (~10 cm from the tumor) to identify the major lymphocyte subpopulations and to determine the expression of TLRs (2, 3, 4) on $CD45^+$ lymphocytes and $CD45$ -EpCAM⁺ epithelial cells. STATISTICA 13.3 was used for statistical analysis of the study results.

Results. N_0 patients showed increased numbers of T-lymphocytes, natural killer (NK) cells, in tumor tissue. In the peritumoral zone of N_0 , a lower content of $CD19^+$ was observed, while in N^+ , double positive lymphocytes (DP) and NK showed a decrease ($p < 0.05$). Tumor tissues from the N_0 group showed a decrease in the number of tumor cells expressing TLR3, in contrast to the N^+ group. In the peritumoral zone of both the groups, there was a multidirectional change in the number of cells expressing TLR2: a decrease in N_0 and an increase in N^+ ($p < 0.05$). When analyzing the relative number of lymphocytes in tissue fragments of primary tumors of patients with N_0 , we observed a decrease in the relative number of cells expressing TLR2 and an increase in the number of cells expressing TLR3 and TLR4. For patients with N^+ , we noted a 2.5-fold increase in the number of cells expressing TLR4 ($p < 0.05$). We developed a comprehensive model using the logistic regression method to determine the probability of lymphogenic metastasis of CRC. The mathematical model was used to calculate the N^+ probability based on individual patient values. The diagnostic sensitivity was 89.1 % and the specificity was 88.2 %.

Выводы. Предложенная модель позволит прогнозировать распространенность процесса на предоперационном этапе у больных РОК, а также может стать одним из методов уточняющей диагностики в стадировании процесса.

Ключевые слова: рак ободочной кишки; локальный иммунитет; прогностические факторы; лимфогенное метастазирование

Для цитирования: Кит О.И., Дженкова Е.А., Мирзоян Э.А., Новикова И.А., Сагакянц А.Б., Златник Е.Ю., Бондаренко Е.С., Каминский Г.В., Малинин С.А., Чалхакян Л.Х., Алексеев Э.К., Антонян А.А., Димитриади С.Н. Прогностические иммунологические факторы лимфогенного метастазирования при раке ободочной кишки. *Вопросы онкологии*. 2024; 70(5): 920-927.-DOI: 10.37469/0507-3758-2024-70-5-920-927

✉ Контакты: Мирзоян Эллада Арменовна, ellada.mirzoyan@yandex.ru

Введение

Колоректальный рак (КРР) является актуальной проблемой онкологии, более 2/3 случаев которого приходится на рак ободочной кишки (РОК) [1–3].

Важным этапом эволюции первичной опухоли является ее способность к метастазированию, а своевременное радикальное оперативное вмешательство является основным моментом в лечении РОК [4]. Наличие пораженных лимфатических узлов (ЛУ), а также их локализация и количество являются факторами прогноза течения заболевания и имеют важное значение в принятии решения о вариантах дальнейшей тактики лечения [5, 6, 7].

Основным направлением на сегодняшний день в онкологии является изучение роли различных звеньев иммунной системы (ИС) в возникновении, течении, прогрессировании онкологического заболевания. Факт доказанной двойственной роли ИС определяет актуальность изучения роли отдельных компонентов адаптивного и врожденного иммунитета в колоректальной карциногенезе [8].

Известно, что ткань первичной опухоли при КРР инфильтрирована различными воспалительными и иммунными клетками (наиболее значимые Т-лимфоциты). В литературе имеется ряд работ, посвященных изучению опухоль-инфильтрирующих иммунокомпетентных клеток и оценке их прогностической значимости при КРР [9–12].

В механизмах активации и реализации функций врожденного иммунитета особая роль принадлежит паттерн-распознающим рецепторам (PPR, Pattern Recognition Receptors, PRRs), одними из представителей которых являются Толл-подобные рецепторы (Toll like receptors, TLRs) [14]. TLRs могут экспрессироваться не только на клетках врожденного иммунитета, но и на клетках колоректальной опухоли [13, 14].

Известно, что высокая экспрессия TLR4 связана с неблагоприятным прогнозом при КРР, что

Conclusion. The proposed model will make it possible to predict the prevalence of the process at the preoperative stage in CRC patients, and may also become one of the methods for clarifying the diagnosis in process staging.

Keywords: colon cancer; local immunity; prognostic factors; lymphogenous metastasis

For Citation: Oleg I. Kit, Elena A. Djenkova, Ellada A. Mirzoyan, Inna A. Novikova, Alexandr B. Sagakyants, Elena Yu. Zlatnik, Elena S. Bondarenko, Gennadiy V. Kaminsky, Sergey A. Malinin, Lusigen Kh. Chalkhakhyan, Eduard K. Alekseev, Artur A. Antonyan, Sergey N. Dimitriadi. Prognostic immunological factors of lymphogenic metastasis in colon cancer. *Voprosy Onkologii = Problems in Oncology*. 2024; 70(5): 920-927. (In Rus).-DOI: 10.37469/0507-3758-2024-70-5-920-927

позволяет рассматривать его как потенциальный маркер прогрессирования заболевания [15, 16].

Различные генетические варианты в TLR2, TLR3 и TLR4 могут влиять на развитие КРР, а также на выживаемость после установления диагноза, однако механизмы этого явления остаются малоизученными и не до конца понятными [17, 18].

Известен широкий спектр исследований по изучению опухоль-инфильтрирующих и опухоль-ассоциированных иммунокомпетентных клеток, экспрессии ряда TLR на иммунокомпетентных клетках (ИКК) (макрофагах, нейтрофилах, различных лимфоцитах) и опухолевых клетках, однако в данных работах не проводилась детальная и комплексная оценка иммунологических факторов в опухолевой ткани, перитуморальной зоне и линии резекции при РОК, учитывая наличие лимфогенных метастазов.

Таким образом, не вызывает сомнения важность изучения роли опухолевой инфильтрации лимфоцитами, а также оценка экспрессии TLRs в опухолях ободочной кишки, которые определяют биологические свойства опухоли и особенности клинического течения заболевания, с последующим проецированием полученных результатов на вероятность лимфогенного метастазирования. Целью исследования является оценка роли ряда иммунологических параметров локального иммунитета при РОК в зависимости от распространенности процесса, и на основании полученных данных разработать комплексную модель для определения вероятности лимфогенного метастазирования опухоли.

Материалы и методы

В данное исследование были включены 50 больных с РОК, проходившие лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России в 2021 г.

В группе больных возрастной диапазон составил 35–86 лет. В процентном соотношении женщины составили большую часть выборки —

26 (52 %). Медиана возраста (Me) и интерквартильного размаха 25 и 75 процентиля составила 54 [53; 60]. Для оценки распространения РОК мы использовали международную классификацию по TNM № 8 (пересмотр 2019). В изучаемой группе было выявлено следующее распределение по стадиям: I — 4 пациента (8 %), II — 25 (50 %), III — 21 (42 %). Распространение опухоли в пределах кишечной стенки (T1-3) было отмечено у 38 (76 %) пациентов, а опухоль, которая проросла в другие органы и/или висцеральную брюшину T4 — у 12 (24 %). Региональные ЛУ (N⁺) поражены у 27 пациентов (54 %).

В зависимости от локализации опухолевого процесса (правая и левая половина ободочной кишки) пациенты были разделены на 2 равные группы по 25 человек в каждой. У всех пациентов была выявлена аденокарцинома с различной степенью дифференцировки опухоли: большинство пациентов имели G2 (умереннодифференцированную) аденокарциному (80 %). Всем больным на первом этапе проводили хирургическое лечение (гемиколэктомия правосторонняя/левосторонняя, резекция сигмовидной кишки). У 31 (62 %) пациента хирургическое вмешательство дополнялось стандартной лимфаденэктомией, а у 19 (38 %) — расширенной. Из ткани опухоли, перитуморальной зоны (1–3 см от опухоли), линии резекции (условно-здоровая ткань, ~ 10 см от опухоли) была получена клеточная суспензия, которую обрабатывали при помощи панели антител (Becton Dickinson, USA) для выявления основных субпопуляций лейкоцитов и лимфоцитов. Также была определена экспрессия TLR2, TLR3, TLR4 на клетках с фенотипом CD45⁺, CD45⁻ с использованием проточного цитометра BD FACSCanto (Becton Dickinson, USA). Статистический анализ результатов исследования проводился с помощью программы STATISTICA 13.3 (StatSoft Inc., США), что предполагало расчёт основных статистических характеристик, определение характера распределения определяемых показателей с использованием критерия Шапиро – Уилка. В связи с тем, что полученные результаты имели ненормальное распределение, они представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха — 25 и 75 процентиля (Me [LQ; UQ]). Достоверность отличий между выборками оценивали с использованием критерия Манна – Уитни. Результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Анализ локального содержания субпопуляций лимфоцитов при РОК в зависимости от

вовлечения в опухолевый процесс регионарных ЛУ показал, что в тканях первичной опухоли пациентов обеих групп отмечено увеличение общего количества лимфоцитов (CD45⁺), а также уменьшение двойных позитивных (ДП), двойных негативных (ДН), натуральных киллерных Т-лимфоцитов (НКТ), В-лимфоцитов, по сравнению с линией резекции. Однако в опухолях у пациентов с N0 выявлено увеличение Т-лимфоцитов, натуральных киллеров (NK), по сравнению с линией резекции ($p < 0,05$).

В перитуморальной зоне обеих групп выявлено высокое содержание CD45⁺, однако в группе N0 отмечено более низкое содержание CD19⁺ и высокое – NK клеток, а у пациентов с N⁺ низкое количество ДП, NK ($p < 0,05$) (рис. 1).

В обеих группах выявлено значительное увеличение эпителиальных клеток (CD45⁻), экспрессирующих TLR4 в 6,3 и в 3,1 раз соответственно, и снижение клеток, экспрессирующих TLR2. Для тканей первичных опухолей группы N0 характерно уменьшение количества опухолевых клеток, экспрессирующих TLR3, по сравнению с линией резекции ($p < 0,05$) (рис. 2).

В перитуморальной зоне опухолей 2-х сравниваемых групп наблюдается увеличение клеток с фенотипом CD45⁻, экспрессирующих TLR4, а также разнонаправленное изменение количества клеток, экспрессирующих TLR2: уменьшение — при N0, увеличение — при N⁺. Для перитуморальной зоны группы N0 отмечено снижение клеток, экспрессирующих TLR3 ($p < 0,05$) (рис. 2).

В тканях первичных опухолей пациентов группы N0 наблюдается уменьшение относительного количества клеток с фенотипом CD45⁺, экспрессирующих TLR2, и увеличение экспрессирующих TLR3,4, в то время как для пациентов из группы N⁺ отмечено лишь значительное увеличение количества клеток, которые экспрессируют TLR4 в 2,5 раз, по сравнению с линией резекции ($p < 0,05$). Выявлены различия, касаемые перитуморальной зоны группы N0: увеличение клеток, которые экспрессируют TLR2, TLR3, и снижение клеток, экспрессирующих TLR4 ($p < 0,05$), при сравнении с условно-здоровой тканью (рис. 3).

Все выше перечисленные результаты легли в основу следующего этапа нашего исследования, а именно в поиске прогностических иммунологических факторов лимфогенного метастазирования.

При анализе дискриминантной мощности иммунологических показателей в тканях первичной опухоли у пациентов N0/+ выявлено, что наибольшей высокой прогностической значимостью для формирования заключения о наличии лимфогенных метастазов обладает ряд показателей:

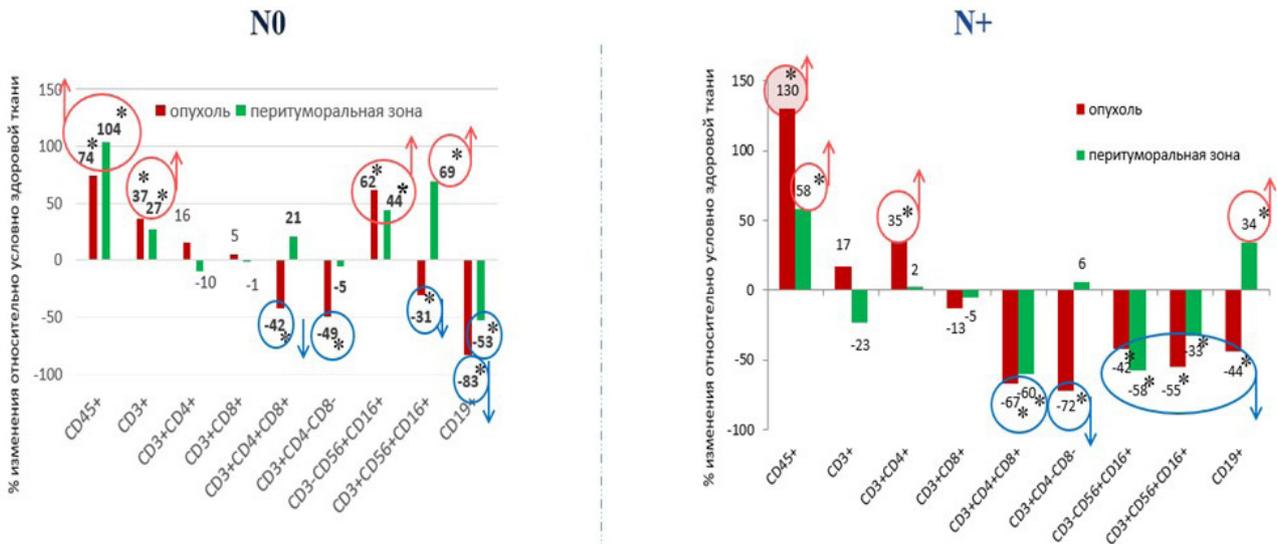


Рис. 1. Особенности локального популяционного и субпопуляционного состава иммунокомпетентных клеток при РОК в зависимости от критерия N

Пояснения: CD45+ — общее число лимфоцитов (лимф), CD3+ — Т-лимфоциты, CD3+CD4+ — Т-лимфоциты хелперы, CD3+CD8+ — цитотоксические Т-лимфоциты, CD3+CD4+CD8+ — двойные положительные лимфоциты (ДП), CD3+CD4-CD8- — двойные отрицательные лимфоциты (ДН), CD3-CD56+CD16+ — NK-лимфоциты, CD3+CD56+CD16+ — NKT лимфоциты, CD19+ — В-лимфоциты

* — статистически достоверные отличия относительно условно здоровой ткани, p < 0,05

Fig. 1. Characteristics of the local population and subpopulation composition of immunocompetent cells in CRC according to N criteria
 Legend. CD45+ — total lymphocytes (lymph), CD3+ — T lymphocytes, CD3+CD4+ — T helper lymphocytes (ThLs), CD3+CD8+ — cytotoxic T lymphocytes (CTLs), CD3+CD4+CD8+ — double positive lymphocytes (DP), CD3+CD4-CD8- — double negative lymphocytes (DN), CD3-CD56+CD16+ — NK lymphocytes, CD3+CD56+CD16+ — NKT lymphocytes, CD19+ — B lymphocytes.

* — statistically significant differences compared to conditionally healthy tissue, p < 0.05

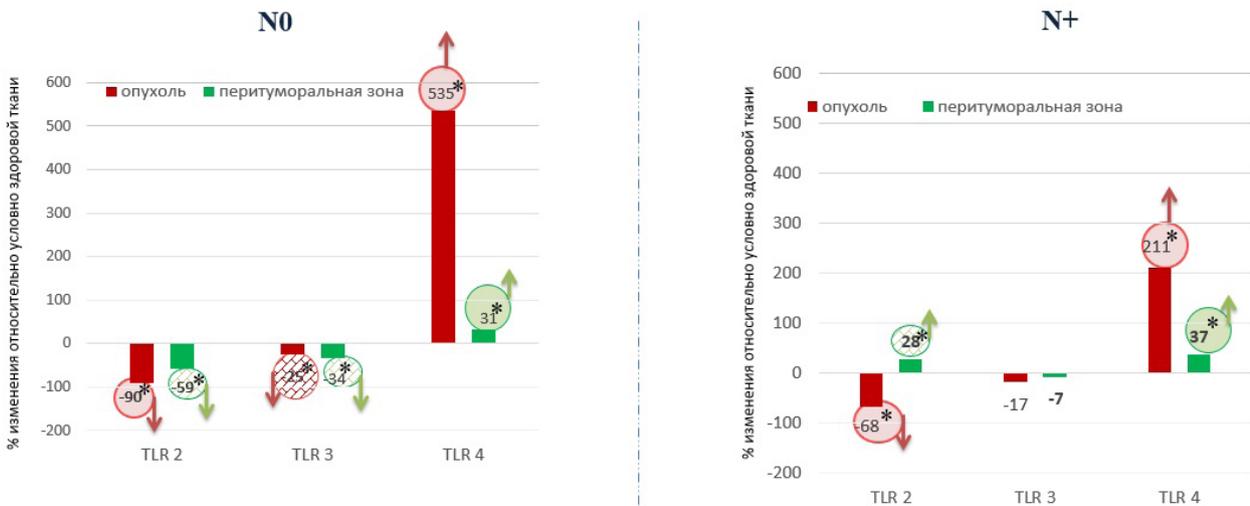


Рис. 2. Относительное содержание эпителиальных клеток (CD45-), которые экспрессируют TLR 2, TLR 3, TLR 4, при РОК в зависимости от критерия N

Пояснения: группа клеток с фенотипом CD45- эпителиальные клетки опухолевого происхождения, * — статистически достоверные отличия относительно условно здоровой ткани, p < 0,05

Fig. 2. Relative content of epithelial cells (CD45-) expressing TLR 2, TLR 3, TLR 4 in CRC according to N criterion
 Legend. The group of cells with the CD45 phenotype are epithelial cells of tumor origin, * — statistically significant differences compared to conditionally healthy tissue, p < 0.05

- лимф оп — общее число лимфоцитов в опухолевой ткани;
- CD3+оп — Т-лимфоциты в опухолевой ткани;
- CD45-TLR2+оп — клетки CD45-, экспрессирующие TLR2+ в опухолевой ткани;
- CD45-TLR4+оп — клетки CD45-, экспрессирующие TLR4+ в опухолевой ткани;

- CD45+TLR2+оп — клетки CD45+, экспрессирующие TLR2+ в опухолевой ткани;
- CD45+TLR4+оп — клетки CD45+, экспрессирующие TLR4+ в опухолевой ткани.

С помощью метода логистической регрессии была разработана комплексная модель для определения вероятности лимфогенного метастазирования опухоли.

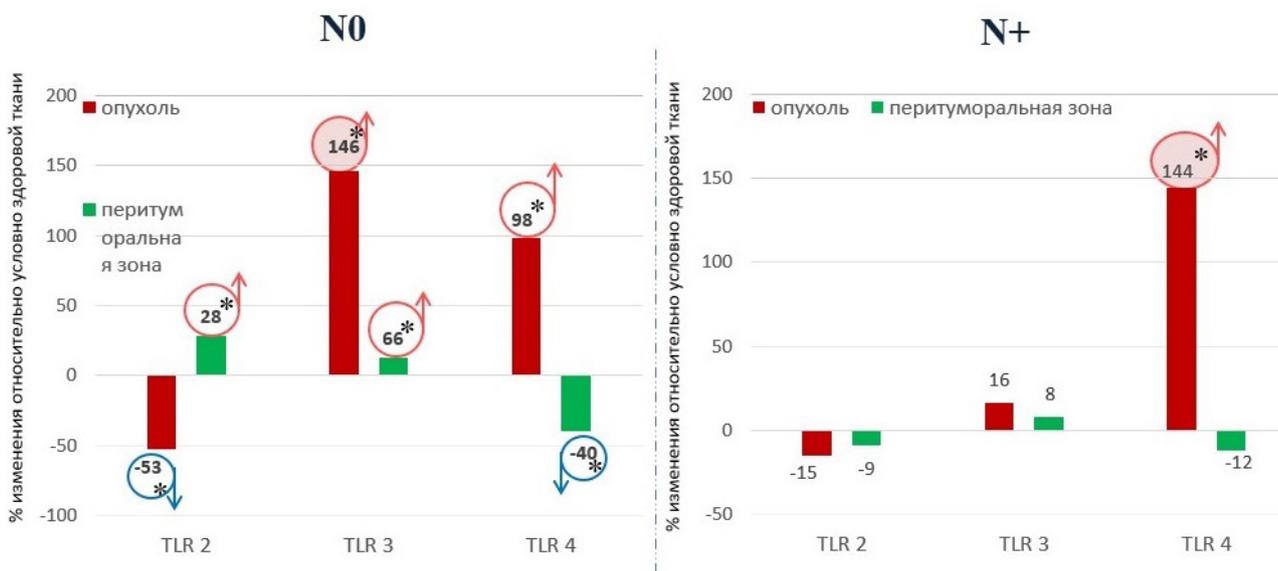


Рис. 3. Относительное содержание лимфоцитов (CD45+), которые экспрессируют TLR 2, TLR 3, TLR 4, при ПОК в зависимости от критерия N

Пояснения: CD45+ — популяция лимфоцитов, * — статистически достоверные отличия относительно условно здоровой ткани, $p < 0,05$

Fig. 3. Relative content of lymphocytes (CD45+) expressing TLR2, TLR3, TLR4, in CRC, according to N criterion

Legend. CD45+ — lymphocyte population, * — statistically significant differences compared to conditionally healthy tissue, $p < 0.05$

Величина вероятности лимфогенного метастазирования (Z) опухолей ободочной кишки соответствует формуле:

$$Z = \frac{\exp(P)}{1 + \exp(P)},$$

где $P = 0,315 \times \text{лимфоп} + 0,048 \times \text{CD3}^+_{\text{оп}} + 0,014 \times \text{CD45-TLR2}^+_{\text{оп}} + 0,016 \times \text{CD45-TLR4}^+_{\text{оп}} + 0,2 \times \text{CD45}^+_{\text{оп}} - 0,13 \times \text{CD45}^+_{\text{оп}}$ - 5,24.

Индивидуальные значения пациента подставляются в математическую модель и рассчитывается вероятность лимфогенного метастазирования опухоли. По результатам ROC анализа, при превышении значения Z выше 0,25 включительно формируется вывод о наличии лимфогенного метастазирования опухоли (диагностическая чувствительность — 89,1 %, диагностическая специфичность — 88,2 %).

Получив обоснование применения комплексной математической модели при анализе фрагментов опухолевой ткани, полученных в ходе оперативного вмешательства, нами было решено проверить информативность ее использования на предоперационном этапе. С этой целью во время проведения колоноскопии на предоперационном этапе, у 10 пациентов были взяты фрагменты ткани первичной ткани опухоли, в которых определялись аналогичные иммунологические показатели. Информативность модели была доказана и на дооперационном этапе, в результате чего получен патент на изобретение [19] (патент на изобретение РФ № 2800534).

Обсуждение

Анализ изученных показателей иммунного микроокружения, проведенный с учетом критерия N, позволил нам выявить следующее. В группе N+, по сравнению с N0, отмечено больше лимфоцитов за счет В-клеток, ее перитуморальная зона характеризуется также более высоким количеством В-лимфоцитов и DN Т-клеток и меньшим — CD3+, ДП, НК- и NKT-подобных клеток; напротив, в линии резекции N+ опухолей обнаружен более высокий уровень CD45+, ДП, ДН, НК- и NKT-подобных клеток при более низком уровне В-лимфоцитов. Кроме того, в группе пациентов, у которых выявлено поражение ЛУ наблюдаются более высокие значения CD45-TLR4+ клеток в перитуморальной зоне (в 1,6 раза) и в линии резекции (в 1,5 раза) при более низком уровне в последней CD45-TLR2+ клеток (в 2,4 раза) и CD45-TLR3+ клеток (в 1,1 раза). При этом в ткани опухоли происходило нарастание уровня CD45+TLR2+ клеток (в 2,8 раза), в перитуморальной зоне — уровня CD45+TLR3+ клеток (в 2 раза) и CD45+TLR2+ клеток (в 1,5 раза) и CD45+TLR3+ клеток (в 2 раза). При N0 количество CD45+TLR2+ клеток в перитуморальной зоне и линии резекции превышало данный показатель в опухоли в 2,1 и 2,7 раз соответственно, тогда как при их поражении уровни этих клеток были практически одинаковы во всех исследованных образцах, что говорит об их накоплении в опухолевой ткани. Напротив, CD45+TLR3+ клетки выявлялись в большем количестве в опухоли без метастазирования, где

превышали уровни в тканях линии резекции (в 2,5 раза) и перитуморальной зоне (в 2,2 раза), а в метастазирующих опухолях показатели в исследованных фрагментах различались всего на 6–12 %.

Судя по полученным результатам, экспрессия TLR на лимфоцитах и негемопоэтических клетках, возможно, может играть неодинаковую роль в прогрессировании РОК. Так, ткань опухоли характеризуется максимальным среди всех тканевых образцов уровнем CD45-TLR4⁺ и минимальным CD45-TLR2⁺ клеток, но наиболее выраженное повышение экспрессии TLR4 происходит в ней при увеличении глубины инвазии преимущественно за счет нарастания количества CD45⁺TLR4⁺ клеток. Метастазирование в региональные ЛУ также характеризуется снижением TLR2 и TLR3 при повышении TLR4 в неопухолевых тканевых образцах за счет экспрессии этих рецепторов на CD45- клетках, тогда как по содержанию CD45⁺TLR2 и CD45⁺TLR3⁺ клеток перитуморальной зоны и линии резекции приближаются к опухолевой ткани. Кроме того, уровень CD45⁺TLR3⁺ клеток в опухоли оказался выше, чем уровень CD45-TLR3⁺ вне зависимости от глубины инвазии и наличия метастазирования.

Таким образом, у больных РОК N0 сдерживающим фактором роста опухоли являются NK-клетки врожденной иммунной системы, которые первые осуществляют противоопухолевый иммунный надзор и реализуют контроль над метастазированием, аналогичная тенденция наблюдается и в перитуморальном микроокружении опухоли, которая в данном случае, по нашему мнению, является буферной зоной опухоли.

Сегодня известны различные способы прогнозирования метастазирования рака толстой кишки, большинство из которых связано с прогнозированием гематогенных метастазов. Один из способов прогнозирования метастазирования основан на определении степени дифференцировки опухоли: low-grade и high-grade новообразования (World Health Organization Classification of Tumours; 2000). Известно, что аденокарциномы толстой кишки со степенью дифференцировки low-grade имеют благоприятный клинический прогноз, для high-grade аденокарцином характерен высокий риск развития метастазирования и плохой прогноз клинического течения заболевания [20].

Из патентных источников также известен «Способ прогнозирования лимфогенного метастазирования при аденокарциноме толстого кишечника». Суть данной методики заключается в макроскопическом исследовании первичной опухоли, линий резекции и всех удаленных во время операции ЛУ, а также морфологического исследования препаратов ткани первичной опухоли на светооптическом уровне: проводят имму-

ногистохимическое исследование по стандартной методике согласно протоколам, для которого используют следующие антитела: Rb pAb to Beclin 1 (ab62472, Abcam), Rb Anti-mTOR PAb (E1 8590, Bioscience), p53 Protein (Clone DO-7, monoclonal mouse, RTU, Dako), Ki67 Antigen (Clone MIB-1, monoclonal mouse, RTU, Dako), Bcl2 Oncoprotein (Clone 124, monoclonal mouse, RTU, Dako), (заявка RU 2 688 678 C1, МПК G01N 33/48). Авторами была разработана формула вероятность развития лимфогенных метастазов: при вероятности $P \geq 50\%$ определяют высокий, а при вероятности $P < 50\%$ определяют низкий риск развития лимфогенных метастазов [21].

В статье Е.Ю. Златник с соавт. (2022) были определены ряд прогностических факторов неблагоприятного течения КРР: высокие уровни IL-6, IL-10, моноцитов и гранулоцитов, отвечающих на fMLF в крови, повышение уровня NKT клеток и опухолевых стволовых клеток (ОСК) при снижении МНС-экспрессирующих опухолевых клеток в ткани. У 299 пациентов РОК проведено изучение уровней ЦОК и ОСК с их прогностической значимостью с разделением полученных значений на ранги [22].

В результате проведенного нами изучения параметров локального иммунитета была разработана прогностическая дискриминантная модель, которая по совокупности иммунологических показателей ткани опухоли позволяет прогнозировать риск развития лимфогенного метастазирования РОК.

Заключение

1. У пациентов РОК с N0 в тканях первичной опухоли отмечено низкое содержание В-лимфоцитов (на 83 %) и клеток CD45- (TLR2 на 90 % и TLR3 на 25 %) при этом, увеличение количества Т-лимфоцитов, в т. ч. с экспрессией TLR3 (в 2,5 раз) и NK клеток (на 62 %) ($p < 0,05$).

2. При N⁺ выявлено низкое содержание NK (42 %) и наиболее низкий уровень NKT (55 %), ДП (67 %), ДН (72 %), но при этом повышенный CD45⁺ (в 2,3 раза) с экспрессией TLR4 (в 2,5 раза) и CD4⁺лимфоцитов, по сравнению с линией резекцией ($p < 0,05$).

3. В перитуморальной зоне первичной опухоли при N0 отмечается высокий уровень Т- и NK-клеток, при низком — В-лимфоцитов, противоположная тенденция наблюдается в группе N⁺ ($p < 0,05$).

4. На основании проведенного анализа клинических и локальных иммунологических параметров пациентов РОК была предложена математическая модель прогнозирования лимфогенного метастазирования, которую можно

использовать в качестве уточняющей диагностики на дооперационном этапе (диагностическая чувствительность — 89,1 %, диагностическая специфичность — 88,2 %) (Патент на изобретение РФ № 2800534; опубл. 24.07.2023, Бюл. № 21. — 11 с). Предложенная модель позволит прогнозировать распространенность процесса не предоперационном этапе у больных РОК, а также может стать одним из методов уточняющей диагностики в стадировании процесса.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Все процедуры с вовлечением больных были проведены в соответствии с Хельсинкской декларацией по правам человека в редакции 2013 г. Проведение данной работы одобрено этическим комитетом при ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России протокол № 32 от 08.10.2020. Все больные подписывали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

All procedures involving human subjects were performed in accordance with the Declaration of Helsinki (2013). The study was approved by the Ethics Committee of the National Medical Research Centre of Oncology of the Ministry of Health of Russia, Protocol No. 32, dated 08.10.2020. All patients gave written informed consent to participate in the study.

Финансирование

Работа выполнена в рамках выполнения государственного задания по теме «Разработка прогностических и предиктивных алгоритмов на основе выявления новых иммунологических и молекулярно-генетических характеристик злокачественных опухолей и их микроокружения», рег. № 121031100251-9.

Financing

The work was carried out within the framework of the government assignment 'Development of prognostic and predictive algorithms based on the identification of new immunological and molecular-genetic characteristics of malignant tumors and their microenvironment', Reg. No. 121031100251-9.

Участие авторов

Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE.

Кит О.И., Дженкова Е.А., Новикова И.А., Сагакянц А.Б., Златник Е.Ю. — научное редактирование;

Мирзоян Э.А. — написание текста, обработка материала; Бондаренко Е.С., Каминский, Малинин С.А., Чалхакян Л.Х., Алексеев Э.К., Антонян А.А., Димитриади С.Н. — сбор, анализ данных, техническое редактирование, оформление библиографии.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразил(и) согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.

Authors' contributions

Authors declare that their authorship conforms to ICMJE international criteria.

Kit O.I., Djenkova E.A., Novikova I.A., Sagakyants A.B., Zlatnik E.Yu. — performed the scientific editing;

Mirzoyan E.A. — processed the material and drafted the manuscript;

Bondarenko E.S., Kaminsky G.V., Malinin S.A., Chalkhachyan L.Kh., Alekseev E.K., Antonyan A.A., Dimitriadi S.N. — collected and analysed data, did the technical editing, and organised the reference list.

All authors have approved the final version of the article before publication, agreed to assume responsibility for all aspects of the work, implying proper review and resolution of issues related to the accuracy or integrity of any part of the work.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Осомбаев М.Ш., Джекшенов М.Д., Сатыбалдиев О.А., et al. Эпидемиология колоректального рака. Научное обозрение. *Медицинские науки*. 2021; 1: 37-42.-DOI: <https://doi.org/10.17513/srms.1169>. [Osombaev M.Sh., Dzhekshenov M.D., Satybaldiev O.A., et al. Epidemiology of colorectal cancer. *Scientific Review Medical Sciences*. 2021; 1: 37-42.-DOI: <https://doi.org/10.17513/srms.1169>. (in Rus)].
- Старостин Р.А., Гатауллин Б.И., Валитов Б.Р., et al. Колоректальный рак: эпидемиология и факторы риска. Поволжский онкологический вестник. 2021; 12(4): 52-9. [Starostin R.A., Gataullin B.I., Valitov B.R. et al. Colorectal cancer: epidemiology and risk factors. *Oncology Bulletin of the Volga Region*. 2021; 12(4): 52-9. (In Rus)].
- Ansa B.E., Coughlin S.S., Alema-Mensah E., et al. Evaluation of colorectal cancer incidence trends in the United States (2000-2014). *J Clin Med*. 2018; 7(22): 310-321.-DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm7020022>.
- Kobayashi H., West N.P., Takahashi K., et al. Quality of surgery for stage III colon cancer: comparison between England, Germany, and Japan. *Ann Surg Oncol*. 2014; 21: 398-404.-DOI: <https://doi.org/10.1245/s10434-014-3578-9>.
- Matsuda K., Hotta T., Takifuji K., et al. Lymph nodes ratio is associated with the survival of colorectal cancer patients with peritoneal carcinomatosis. *Am Surg*. 2011; 77(5): 602-607.
- Ong M., Schofield J. Assessment of lymph node involvement in colorectal cancer. *World J Gastrointest Surg*. 2016; 8(3): 179-192.-DOI: <https://doi.org/10.4240/wjgs.v8.i3.179>.
- Карачун А.М., Панайотти Л.Л., Петров А.С. Выбор оптимального объема лимфодиссекции в хирургическом лечении рака ободочной кишки: протокол клинического исследования. *Тазовая хирургия и онкология*. 2017; 2: 11-19.-DOI: <https://doi.org/10.17650/2220-3478-2017-7-2-11-19>. [Karachun A.M., Panajotti L.L., Petrov A.S. The choice of optimal lymph node dissection extent in surgical treatment for colon cancer: protocol the clinical trial. *Pelvic Surgery and Oncology*. 2017; 2: 11-19.-DOI: <https://doi.org/10.17650/2220-3478-2017-7-2-11-19>. (In Rus)].
- Schreiber RD. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science*. 2011; 331:1565-1570.-DOI: <https://doi.org/10.1126/science.120348>.
- Никипелова Е.А., Кит О.И., Шапошников А.В., et al. Колоканоцерогенез: онкоиммунология локальных изменений. *Злокачественные опухоли*. 2016; 4(Спецвыпуск 1): 81-86.-DOI: <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2016-4s1-81-86>. [Nikipelova E.A., Kit O.I., Shaposhnikov AV., et al. Colocancerogenesis: oncoimmunology of local changes. *Malignant Tumors*. 2016; 4(Spec Issue 1): 81-86. DOI: <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2016-4s1-81-86>. (In Rus)].

10. Pages F, Galon J, Fridman W.H. The essential role of the in situ immune reaction in human colorectal cancer. *J Leukoc Biol.* 2008; 84(4): 981-987.-DOI: <https://doi.org/10.1189/jlb.1107773>.
11. Grizzi F, Bianchi P, Malesci A., et al. Prognostic value of innate and adaptive immunity in colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 2013; 19(2): 174-184.-DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i2.174>.
12. Jiménez-Dalmaroni M.J., Gerswhin M.E., Adamopoulos I.E. The critical role of toll-like receptors--From microbial recognition to autoimmunity: A comprehensive review. *Autoimmun Rev.* 2016; 15(1): 1-8.-DOI: <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2015.08.009>.
13. Gay N.J., Symmons M.F., Gangloff M., Bryant C.E. Assembly and localization of Toll-like receptor signalling complexes. *Nat Rev Immunol.* 2014; 14(8): 546-58.-DOI: <https://doi.org/10.1038/nri3713>.
14. Li T.T., Ogino S., Qian Z.R. Toll-like receptor signaling in colorectal cancer: carcinogenesis to cancer therapy. *World Journal of Gastroenterology.* 2014; 20(47): 17699-17708.-DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i47.17699>.
15. Свитич О.А., Филина А.Б., Давыдова Н.В., et al. Роль факторов врожденного иммунитета в процессе опухолеобразования. *Медицинская иммунология.* 2018; 20(2): 151-162.-DOI: <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2018-2-151-162>. [Svitich O.A., Filina A.B., Davydova N.V., et al. The Role of Innate Immunity Factors in Tumorigenesis Process. *Medical Immunology.* 2018; 20(2): 151-162.-DOI: <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2018-2-151-162>. (In Rus)].
16. Brunner R., Jensen-Jarolim E., Pali-Schöll I. The ABC of clinical and experimental adjuvants--a brief overview. *Immunol Lett.* 2010; 128(1): 29-35.-DOI: <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2009.10.005>.
17. Cammarota R., Bertolini V., Pennesi G., et al. The tumor microenvironment of colorectal cancer: stromal TLR-4 expression as a potential prognostic marker. *J Transl Med.* 2010; 8: 112.-DOI: <https://doi.org/10.1186/1479-5876-8-112>.
18. Slattery M.L., Herrick J.S., Bondurant K.L., Wolff R.K. Toll-like receptor genes and their association with colon and rectal cancer development and prognosis. *Int J Cancer.* 2012; 130(12): 2974-80.-DOI: <https://doi.org/10.1002/ijc.26314>.
19. Кит О.И., Демидова А.А., Дженкова Е.А., et al. Способ прогнозирования лимфогенного метастазирования рака ободочной кишки. Патент на изобретение РФ № 2800534; опубл. 24.07.2023, Бюл. № 21: 11 с. [Kit O.I., Demidova A.A., Dzhenkova E.A., et al. Method for prediction of lymphatic metastasis in colon cancer. Russian Invention Patent No. 2800534; Publ. 24.07.2023, Bul. No. 21: 11 p. (In Rus)].
20. Ed. by Kleihues P., Sobin L.H. Pathology and genetics of tumours of the digestive system. World Health Organization Classification of Tumours. IARC Press. International Agency for Research on Cancer (IARC). Lyon, France. 2000: 110.
21. Вторушин С.В., Рачковский К.В., Заявьялова М.В., et al. Способ прогнозирования лимфогенного метастазирования при аденокарциноме толстого кишечника. Патент на изобретение РФ № 2688678; опубл. 22.05.2019, Бюл. № 15: 14 с. [Vtorushin S.V., Rachkovskij K.V., Zayavyalova M.V., et al. Method for prediction of lymphatic metastasis in colon adenocarcinoma. Russian Invention Patent No. 2688678; pub. 22.05.2019, Bul. No. 15: 14 p. (in Rus)].
22. Златник Е.Ю., Новикова И.А., Бондаренко Е.С., et al. Характеристика системного и локального иммунитета и стволовых опухолевых клеток у больных колоректальным раком с различной распространенностью, динамикой и прогнозом. *Медицинская иммунология.* 2022; 24 (1): 121-134.-DOI: <https://doi.org/10.15789/1563-0625-COL-2352>. [Zlatnik E.Yu., Novikova I.A., Bondarenko E.S., et al. Characteristics of local and system immunity, and features of cancer stem cells in patients with different stage, dynamics and prognosis of colorectal carcinoma. *Medical Immunology (Russia).* 2022; 24(1): 121-134.DOI: <https://doi.org/10.15789/1563-0625-COL-2352>. (In Rus)].

Поступила в редакцию / Received / 27.03.2024
 Прошла рецензирование / Reviewed / 09.06.2024
 Принята к печати / Accepted for publication / 13.06.2024

Сведения об авторах / Author Information / ORCID

Олег Иванович Кит / Oleg I. Kit / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3061-6108>.
 Елена Алексеевна Дженкова / Elena A. Djenkova / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3561-098X>.
 Эллада Арменовна Мирзоян / Ellada A. Mirzoyan / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0328-9714>.
 Инна Арнольдовна Новикова / Inna A. Novikova / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6496-9641>.
 Александр Борисович Сагакянц / Alexander B. Sagakyants / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0874-5261>.
 Елена Юрьевна Златник / Elena Yu. Zlatnik / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1410-122X>, SPIN: 4137-7410, AuthorID: 327457, Scopus Author ID: 6603160432.
 Елена Сергеевна Бондаренко / Elena S. Bondarenko / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8522-1026>
 Геннадий Владимирович Каминский / Gennadiy V. Kaminsky / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4905-4977>, SPIN: 3308-4107.
 Сергей Андреевич Малинин / Sergey A. Malinin / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1220-7143>, SPIN: 7229-1610.
 Лусеген Хачатурович Чалхакян / Lusegen Kh. Chalkhakhyan / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8397-4393>, SPIN: 6534-5911.
 Эдуард Константинович Алексеев / Eduard K. Alekseev / ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0007-4982-5491>.
 Артур Андрясович Антонян / Artur A. Antonyan / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6449-7026>.
 Сергей Николаевич Димитриади / Sergey N. Dimitriadi / SPIN: 8337-8141, AuthorID: 692389, ResearcherID: P-9273-2017.

