

Доклад к научно-квалификационной работе

Тема: «Роль галектинов 1 и 3 в механизмах формирования фенотипического профиля опухоль-ассоциированных моноцитов/макрофагов и неоангиогенезе при раке толстой кишки»

Исследователь: Курносенко Анна Васильевна

Научный руководитель: д-р мед. наук, доцент Колобовникова Юлия Владимировна

Специальность 3.3.3. Патологическая физиология

Актуальность темы исследования. Рак толстого кишечника (РТК) занимает 3-е место в структуре онкологической заболеваемости в России и мире [Siegel R.L. et al., 2023; Каприн А.Д. и соавт., 2022]. Ключевое значение в развитии опухолей толстой кишки отводится ростовым факторам - EGF (эпидермальному фактору роста) и VEGF (сосудистому эндотелиальному фактору роста). Изменение экспрессии EGF, VEGF может быть обусловлено действием галектинов 1 и 3. С одной стороны, галектины могут взаимодействовать непосредственно с самим рецепторами, опосредуя инвазию и миграцию злокачественных клеток или, с другой стороны, быть модуляторами взаимодействия рецепторов с их специфическими лигандами [Delacour D. et al., 2006; Ellina M.I. et al., 2014; Michael J.V. et al., 2016], тем самым реализуется проопухолевая роль галектинов: ингибирование апоптоза, индукция пролиферации, миграции и неоангиогенеза. Помимо этого, галектины могут проявлять толерогенную и противовоспалительную активность в отношении макрофагального звена иммунитета [Chou F. et al., 2018], в частности, индуцировать поляризацию моноцитов/макрофагов по M2-пути [Correa S.G. et al., 2003; MacKinnon A.C. et al., 2008]. Дифференцированные таким образом макрофаги, в свою очередь, мигрируют в ткань опухоли по градиенту концентрации галектина-3 и синтезируют этот лектин самостоятельно, при этом, высокое содержание галектинов 1 и 3, предположительно, усиливает неоангиогенез. Помимо этого, макрофаги гемического происхождения являются индукторами воспаления, могут синтезировать цитокины и хемокины, являющиеся хемоаттрактантами для других клеток врожденного иммунитета, которые, мигрируя в опухолевый очаг, становятся компонентами опухолевого микроокружения. Стимуляция основных свойств злокачественных клеток и, следовательно, прогрессирование опухолевого процесса, сопровождается дисфункцией эндотелия, следствием чего является появление в периферическом кровотоке десквамированных эндотелиоцитов. Несмотря на описанные эффекты галектинов 1 и 3 при опухолях различных локализаций, сведения о связи галектинов с проангиогенными факторами немногочисленные и неоднозначные.

Цель исследования: установить роль галектинов 1 и 3 в формировании фенотипического профиля моноцитов и дисбаланса факторов ангиогенеза у больных раком толстой кишки в зависимости от клинико-морфологических параметров опухоли.

Задачи исследования:

1. Определить особенности субпопуляционного состава моноцитов (классические $CD14^{++}CD16^{-}$, промежуточные $CD14^{++}CD16^{+}$ и неклассические $CD14^{+}CD16^{++}$) и количество десквамированных эндотелиальных $CD45^{-}CD146^{+}$ -клеток в крови у больных раком толстой кишки.
2. Определить концентрацию проангиогенных факторов (VEGF и EGF) в плазме крови и экспрессию опухолевыми клетками рецепторов к эндотелиальному (VEGFR) и эпидермальному (EGFR) факторам роста у больных раком толстой кишки во взаимосвязи с содержанием галектина-1 и галектина-3 в опухоли и периферической крови.
3. Сопоставить результаты оценки экспрессии галектинов-1,3 в опухоли и их плазменной концентрации с изменением соотношения субпопуляций моноцитов, содержанием проангиогенных факторов и количеством циркулирующих десквамированных эндотелиоцитов в крови у больных раком толстой кишки с разной степенью инвазии и дифференцированности опухоли, а также наличием/отсутствием очагов метастазирования.

Научная новизна исследования. Впервые у больных раком толстой кишки изучено влияние галектинов 1-го и 3-го типов на субпопуляционный состав моноцитов периферической крови во взаимосвязи с проангиогенными факторами, показателем эндотелиальной дисфункции и клинико-морфологическими параметрами опухоли. Установлена положительная связь между высоким содержанием галектинов 1 и 3 в периферической крови и нарушением баланса моноцитов крови в виде снижения относительного содержания классических $CD14^{++}CD16^{-}$ моноцитов и, напротив, увеличения неклассических $CD14^{+}CD16^{++}$ и промежуточных $CD14^{++}CD16^{+}$ клеток у больных раком толстой кишки с низкой степенью дифференцированности опухоли. Прямая зависимость между содержанием ростового фактора VEGF и концентрацией галектинов 1 и 3 в периферической крови, между плазменным уровнем EGF и количеством опухолевых галектин-3⁺-клеток, а также числом EGF- и галектин-1-позитивных клеток в опухоли у больных раком толстой кишки отражает способность изученных галектинов модулировать VEGF- и EGF-опосредованное взаимодействие между клетками опухоли и ее микроокружением, обосновывает неоангиогенез-промотирующий потенциал лектинов. Впервые показано, что у больных раком толстой кишки увеличено абсолютное содержание десквамированных $CD45^{-}CD146^{+}$ эндотелиоцитов (показатель эндотелиальной дисфункции), сопряженное с повышением концентрации галектинов-1, 3 и VEGF в периферической крови вне зависимости от стадии заболевания и степени дифференцированности опухоли.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные новые фундаментальные данные существенно расширяют современные представления о роли галектинов-1,3 в механизмах дифференцировки субпопуляций моноцитов крови и

неоангиогенезе при раке толстой кишки. Результаты анализа фенотипического профиля моноцитов крови у больных раком толстой кишки с высоким содержанием плазменных галектинов 1 и 3 указывают на преобладание неклассических $CD14^+CD16^{++}$ и промежуточных $CD14^{++}CD16^+$ клеток при снижении $CD14^{++}CD16^-$ моноцитов с противоопухолевым потенциалом. Продemonстрировано модулирующее действие галектинов-1,3 в отношении VEGF- и EGF-зависимой кооперации клеток опухоли и ее микроокружения: установлена прямая зависимость между концентрацией галектинов 1 и 3 и содержанием ростового фактора VEGF в периферической крови, между количеством опухолевых галектин-3⁺-клеток и плазменным уровнем EGF, а также числом галектин-1- и EGF-позитивных клеток в опухоли. Отсутствие взаимосвязи содержания галектинов-1,3, ростовых факторов (EGF, VEGF) и циркулирующих эндотелиальных клеток в крови у больных раком толстой кишки с наличием очагов метастазирования, со степенью инвазии и дифференцированности опухоли, по-видимому, связанное с однородностью групп пациентов, требует дальнейших исследований ввиду перспективности использования галектинов в качестве новых молекулярных мишеней при лечении рака толстой кишки.

Методология и методы исследования. В исследование были включены 20 пациентов с верифицированным раком толстой кишки (МКБ C18-20) – 9 мужчин и 11 женщин (средний возраст $63,1 \pm 9,7$ лет), находившиеся на диспансерном учете в ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер» (главный врач – канд. мед. наук, доцент М.Ю. Грищенко). Группу сравнения составили 15 пациентов, у которых были выявлены аденомы толстой кишки, сопоставимых по полу и возрасту с больными раком толстой кишки (12 мужчин и 3 женщины, средний возраст $66,0 [53,0; 78,0]$ лет). Контрольная группа – здоровые добровольцы (10 человек), сопоставимые по полу и возрасту, группа здоровья II-IIIa. Материалом исследования служили образцы тканей толстого кишечника, полученные при операционном вмешательстве, у больных раком и аденомами толстого кишечника, а также цельная периферическая кровь, полученная из локтевой вены у пациентов с раком толстого кишечника и здоровых доноров. Измерение концентрации галектинов-1,3, VEGF и EGF в плазме крови осуществляли методом твердофазного иммуноферментного анализа. Оценку экспрессии галектинов 1 и 3, VEGFR и EGFR в опухолевой ткани проводили на парафиновых срезах методом иммуногистохимии. Оценку субпопуляционного состава моноцитов ($CD14^{++}CD16^-$, $CD14^{++}CD16^+$ и $CD14^+CD16^{++}$ - клеток) и количества $CD45^+CD146^+$ эндотелиоцитов в периферической крови определяли методом проточной цитофлуориметрии. Статистическая обработка результатов исследования выполнена в программном пакете Jamovi 2.3.21 для Windows.

Положения, выносимые на защиту

1. Галектин-1,3-зависимое нарушение субпопуляционного состава моноцитов вследствие снижения классических $CD14^{++}CD16^{-}$ моноцитов и увеличения неклассических $CD14^{+}CD16^{++}$ и промежуточных $CD14^{++}CD16^{+}$ клеток в периферической крови у больных раком толстой кишки сочетается с низкой дифференцированностью опухолевых клеток и не зависит от степени инвазии первичной опухоли и наличия метастазов (регионарных и отдаленных).
2. У больных раком толстой кишки независимо от стадии заболевания и степени дифференцированности опухоли повышение количества десквамированных $CD45^{-}CD146^{+}$ эндотелиоцитов определяется во взаимосвязи с увеличением концентрации галектинов-1,3 и ростового фактора VEGF в крови и не связано с плазменным уровнем EGF и экспрессией EGFR в опухоли.

Заключение. У больных раком толстой кишки галектины 1 и 3 модулируют баланс субпопуляций моноцитов крови по пути доминирования неклассических $CD14^{+}CD16^{++}$ и промежуточных $CD14^{++}CD16^{+}$ клеток при снижении $CD14^{++}CD16^{-}$ моноцитов с противоопухолевым потенциалом. Взаимосвязь галектинов 1 и 3 с содержанием ростового фактора VEGF в крови, плазменного уровня EGF с количеством опухолевых галектин-3⁺-клеток, числом EGF- и галектин-1-позитивных клеток в опухоли, а также абсолютным содержанием десквамированных $CD45^{-}CD146^{+}$ эндотелиоцитов обосновывает способность изученных галектинов опосредовать взаимодействие между клетками опухоли и ее микроокружением и участвовать в механизмах неоангиогенеза при раке толстой кишки.

Выводы

1. У больных раком толстой кишки снижение относительного содержания классических $CD14^{++}CD16^{-}$ моноцитов сочетается с увеличением относительного числа неклассических $CD14^{+}CD16^{++}$ и промежуточных $CD14^{++}CD16^{+}$ клеток и абсолютного количества $CD45^{-}CD146^{+}$ эндотелиоцитов в крови.
2. Дисбаланс субпопуляционного состава моноцитов у больных раком толстой кишки коррелирует с повышением концентрации галектина-1 и галектина-3 в периферической крови, ассоциирован с низкой дифференцированностью опухолевых клеток и не зависит от степени инвазии опухоли и наличия очагов метастазирования.
3. Повышение плазменной концентрации ростового фактора VEGF у больных раком толстой кишки коррелирует с увеличением содержания галектинов 1 и 3 в периферической крови. Высокая концентрация EGF в крови взаимосвязана с процентным количеством опухолевых

галектин-3⁺-клеток, а внутриопухолевая экспрессия EGFR сопряжена с гиперэкспрессией галектина-1 в опухоли при раке толстой кишки.

4. У больных раком толстой кишки повышенное количество циркулирующих CD45⁺CD146⁺ эндотелиоцитов ассоциировано с увеличением концентрации галектинов 1 и 3 и ростового фактора VEGF в периферической крови. Избыточное содержание галектинов-1,3, ростового фактора VEGF и десквамированных эндотелиоцитов в крови при раке толстой кишки не зависит от стадии заболевания и степени дифференцированности опухоли.