

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.11

Перспективные диагностические маркёры рака толстой кишки

Волков С.В., Лобанов С.Л.

ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (672090, г. Чита, ул. Горького, 39а, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Волков Степан Владимирович, e-mail: vsv_19@mail.ru

Резюме

Обоснование. Заболеваемость раком толстой кишки (РТК) за последнее десятилетие заметно растёт в Российской Федерации, при этом около 50 % случаев выявляется на III–IV стадии болезни, когда появляется отчётливая клиническая картина заболевания. В связи с этим поиск новых методов дополнительной диагностики РТК, несомненно, является актуальным.

Цель исследования: определить стандартный состав аэробной пристеночной толстокишечной микробиоты и уровень цитокинов (хемокинов и факторов роста) у больных раком левой половины толстой кишки и оценить возможность использования этих данных в диагностике опухолевого процесса.

Методы. Исследование крови осуществлялось в день исследования с помощью двух тест-систем (BioLegend): мультиплексного набора для определения факторов роста и мультиплексного набора для определения хемокинов. Состав кишечной микробиоты определялся в биоптатах толстой кишки бактериологическим методом с использованием стандартных тест-систем StaphyTest, StreptoTest и EnteroTest.

Результаты. Прослеживается рост количества *Clostridium spp.* и снижение *Bifidobacterium spp.*, *E. coli* в толстой кишке в процессе трансформации слизистой здорового человека в злокачественную опухоль ($p < 0,05$); выявлена чёткая тенденция как увеличения (EGF, HGF, M-CSF, PDGF-AA, PDGF-BB, IP-10), так и уменьшения (MCP-1, RANTES) уровня хемокинов и факторов роста в условиях РТК. Кроме общих количественных изменений кишечной микробиоты, уровня исследуемых веществ, установлена статистически значимая зависимость от пола, возраста пациента, а также степени дифференцировки и формы роста опухоли.

Заключение. Установлено, что изменения количественного состава кишечной микробиоты, уровня некоторых биологически активных веществ, возникающие именно в условиях РТК, могут быть взаимосвязаны и взаимозависимы, а также служить дополнительным диагностическим маркёром при выявлении злокачественной опухоли.

Ключевые слова: рак толстой кишки, хемокины, факторы роста, диагностические маркеры, кишечная микробиота, биоптат толстой кишки, опухолевая ткань

Для цитирования: Волков С.В., Лобанов С.Л. Перспективные диагностические маркёры рака толстой кишки. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 98-104. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.11.

Promising Diagnostic Markers of Colon Cancer

Volkov S.V., Lobanov S.L.

Chita State Medical Academy (Gorkogo str. 39a, Chita 672090, Russian Federation)

Corresponding author: Stepan V. Volkov, e-mail: vsv_19@mail.ru

Abstract

Background. The incidence of colon cancer over the past decade has been growing markedly in the Russian Federation, with about 50 % cases detected at stages III–IV of the disease, when a clear clinical picture of the disease appears. In this regard, the search for new methods for early diagnosis of RTK is undoubtedly relevant.

Objective. To determine the standard composition of the aerobic parietal colon microbiota and the level of cytokines (chemokines and growth factors) in patients with cancer of the left half of the colon and to assess the possibility of using these data in the diagnosis of the tumor process.

Materials and methods. Blood tests were performed on the day of the study using two test systems (BioLegend): multiplex kit for determining growth factors, chemokine multiplex kit. The composition of the intestinal microbiota was determined in colon biopsy specimens by the bacteriological method using the standard test systems StaphyTest, StreptoTest, and EnteroTest.

Results. There is an increase in the number of *Clostridium spp.* and a decrease in *Bifidobacterium spp.*, *E. coli* in the colon during the transformation of a healthy person's mucosa into a malignant tumor ($p < 0.05$); a clear tendency was revealed for both an increase (EGF, HGF, M-CSF, PDGF-AA, PDGF-BB, IP-10) and a decrease (MCP-1, RANTES) of the level of chemokines and growth factors under colon cancer conditions. In addition to general quantitative changes in the in-

intestinal microbiota, the level of the investigated substances, a statistically significant dependence was established on the sex, age of the patient, as well as the degree of differentiation and form of tumor growth.

Conclusion. It was established that changes in the quantitative composition of the intestinal microbiota, the level of some biologically active substances that occur precisely in the conditions of colon cancer, can be interconnected and interdependent, and also serve as an additional diagnostic marker in the detection of a malignant tumor.

Key words: colon cancer, chemokines, growth factors, diagnostic markers, intestinal microbiota, colon biopsy specimen, tumor tissue

For citation: Volkov S.V., Lobanov S.L. Promising Diagnostic Markers of Colon Cancer. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 98-104. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.11.

ВВЕДЕНИЕ

Ранняя диагностика рака толстой кишки (РТК) представляет сложную проблему, связанную с длительным бессимптомным течением. Заболеваемость РТК в Российской Федерации за последнее десятилетие заметно растёт, при этом около 50 % случаев РТК выявляется на III–IV стадии болезни, когда появляется отчётливая клиническая картина заболевания (Ассоциация онкологов России, 2019 г.). В связи с этим, поиск новых методов ранней диагностики РТК, несомненно, является актуальным.

Обнаружено, что бактерии *Salmonella enterica* могут модулировать иммунный ответ хозяина, способствуя канцерогенезу за счёт повреждения ДНК, *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* проявляет антиканцерогенную активность, а ЕТВФ – токсин, выделяемый *Bacteroides fragilis*, уже ассоциирован с раком толстой кишки [1, 2]. Так, в ряде исследований установлено, что уровень некоторых хемокинов (CXCL2, CXCL3, CXCL4, CXCL5, CXCL9, CXCL10, CXCL11) [3–5] и факторов роста (EGF, HGF, TGF- β , VEGF, PDGF, IP-10, FGF-2, G-CSF, GM-CSF, MCP-1, MIP-1 α и β , RANTES TNF α и VEGF-A) [5–8] значительно отличается при РТК относительно контрольной группы. Указанные данные могут свидетельствовать о возможной взаимосвязи этих показателей, а также перспективе использования их в качестве вероятных маркёров опухолевого процесса.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Определить стандартный состав аэробной пристеночной толстокишечной микробиоты и уровень цитокинов (хемокинов и факторов роста) у больных раком левой половины толстой кишки (РТК) и оценить возможность использования этих данных в диагностике опухолевого процесса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Основная группа включала 63 пациента, оперированных по поводу рака (аденокарциномы) левой половины ободочной кишки (нисходящий, сигмовидный, ректосигмовидный отделы) с I T₁₋₂N₀M₀, II T_{3-4a}N₀M₀, III T₁₋₂N₁M₀ стадиями опухолевого процесса без признаков кишечной непроходимости. Только у пяти пациентов был выявлен метастаз в одном регионарном лимфоузле. Остальные пациенты были без регионарного метастазирования. У всех пациентов до госпитализации опухоль была подтверждена посредством колоноскопии с последующим гистологическим исследованием. Среди них 31 мужчина и 32 женщины в возрасте от 20 до 75 лет. Средний возраст пациентов составил 57,7 \pm 3,8 года. Группу клинического сравнения в количестве 25 человек составили пациенты с хроническим геморроем вне обострения, которым проводилась колоноскопия со взятием биопсии в левой половине толстой кишки. Пациенты основной и группы клинического сравнения дали добровольное

информированное согласие на участие в исследовании. Разрешение локального этического комитета получено.

Забор крови у пациентов основной группы осуществлялся в день операции до её начала. У пациентов группы клинического сравнения кровь брали после подтверждения отсутствия патологии толстой кишки (после колоноскопии). Исследование крови осуществлялось с помощью двух тест-систем (BioLegend): мультиплексного набора для определения факторов роста (Angiopoietin-2, (Ang-2), EGF, EPO, FGF-basic, G-CSF, GM-CSF, HGF, M-CSF, PDGF-AA, PDGF-BB, SCF, TGF- α , VEGF), мультиплексного набора для определения хемокинов (MCP-1 (CCL2), RANTES (CCL5), IP-10 (CXCL10), Eotaxin (CCL11), TARC (CCL17), MIP-1 α (CCL3), MIP-1 β (CCL4), MIG (CXCL9), MIP-3 α (CCL20), ENA-78 (CXCL5), GRO α (CXCL1), I-TAC (CXCL11) и IL-8 (CXCL8)).

Забор материала основной группы, биоптаты опухолевой ткани и визуально неизменённой слизистой толстой кишки, осуществлялся интраоперационно во время удаления опухоли: первый биоптат был представлен опухолевой тканью, второй – визуально неизменённой слизистой толстой кишки проксимальнее опухоли на 10 см. У пациентов группы клинического сравнения забор материала осуществлялся в процессе колоноскопии. Выявление хеликобактерной инфекции в биоптате слизистой осуществлялось с помощью определения уреазной активности тест-системой ХЕЛПИЛ, а также методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с детекцией результатов в режиме реального времени (PCR-RT). Состав кишечной микробиоты определялся бактериологическим методом с использованием стандартных тест-систем StaphyTest, StreptoTest и EnteroTest (LaChema, Чехия).

СТАТИСТИКА

Статистическая обработка полученных данных выполнялась при помощи программы Statistica, версия 10.0., с поправками на множественные сравнения.

Проверка нормальности распределения значений переменных в группах наблюдения проводилась с использованием критерия Шапиро – Уилка, распределение принималось нормальным, если $p > 0,05$. Для оценки значимости статистических различий между исследуемыми группами при отсутствии нормального распределения переменных использовали непараметрический ранговый критерий Вилкоксона.

Сила корреляции оценивалась как статистически значимая при $p < 0,05$. Для анализа корреляционной связи между исследуемыми признаками применялся коэффициент корреляции Пирсона (для нормально распределённых переменных) и коэффициент корреляции Спирмена (если распределение переменных отличалось от нормального). Сила корреляционной связи между признаками оценивалась по коэффициенту r .

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате сравнения картины крови онкологических больных и группы клинического сравнения выявлены отличия количественного состава некоторых хемокинов и факторов роста (табл. 1, 2).

Наряду с этим, выявлена чёткая тенденция как увеличения (EGF, HGF, M-CSF, PDGF-AA, PDGF-BB, IP-10), так и уменьшения (MCP-1, RANTES) уровня хемокинов и факторов роста в условиях рака толстой кишки (РТК). В среднем у онкологических пациентов уровень таких сравниваемых веществ, как EGF, HGF, M-CSF, PDGF-AA, PDGF-BB, IP-10, был выше, а MCP-1, RANTES – ниже, чем

в контрольной группе в несколько раз, что является статистически значимым ($p < 0,05$). Самое большое отличие (более чем в 10 раз) установлено по уровню PDGF-AA и RANTES.

В нашей работе изучен уровень исследуемых веществ в зависимости от пола (табл. 3, 4), возраста пациентов (табл. 5), а также степени дифференцировки (табл. 6) и формы роста опухоли (табл. 7). Установлено, что в основной группе у мужчин уровень I-TAC выше, а VEGF ниже, чем у женщин. В контрольной группе у мужчин уровень ENA-78, IP-10, IL-8 выше, чем у женщин. Указанные гендерные отличия являются статистически значимыми.

Факторы роста (средние значения, пг/мл)

Таблица 1

Growth factors (average values, pg/ml)

Table 1

Факторы роста	Пациенты		p
	Группа клинического сравнения* (n = 25)	Основная группа* (n = 63)	
Angioprotein-2	9,82 [7,59–13,5]	9,05 [5,66–13,9]	0,76
EGF	178 [77,4–312]	299 [186–741]	0,006
EPO	147 [103–344]	409 [308–496]	< 0,0001
FGF-basic	8,66 [8,24–9,64]	9,51 [9,04–10,3]	0,0005
G-CSF	15,5 [10,6–26]	23,1 [11–38,6]	0,12
GM-CSF	3,06 [2,71–3,45]	3,04 [2,82–3,51]	0,59
HGF	70,4 [46,3–104]	306 [166–529]	< 0,0001
M-CSF	56,5 [44,6–98,7]	113 [65,9–204]	0,0002
PDGF-AA	1250 [672–5750]	12000 [2320–22000]	0,003
PDGF-BB	4340 [3530–17000]	14300 [6670–22500]	0,022
CSF	36,8 [22,4–76,7]	59,8 [21,5–120]	0,20
TGF-α	7,63 [6,98–8,25]	7,39 [6,58–8,56]	0,73
VEGF	290 [224–723]	600 [410–852]	0,044

Примечание. * – Me [P25–P75]; сравнение групп по критерию Уилкоксона.

Хемокины (средние значения, пг/мл)

Таблица 2

Chemokines (average values, pg/ml)

Table 2

Хемокины	Пациенты		p
	Группа клинического сравнения* (n = 25)	Основная группа* (n = 63)	
IL-8	18 [16,4–19,3]	17,4 [16,4–18,9]	0,52
IP-10	33,3 [20,8–52,4]	35 [25,6–51,6]	0,60
Eotaxin	53,7 [43,1–74]	59,7 [48,5–70,2]	0,84
TARC	112 [60,2–239]	73,1 [53,2–101]	0,022
MCP-1	50,3 [30,5–91,1]	28,2 [20,5–51,4]	0,023
RANTES	33,9 [15,6–53]	62,3 [40,5–95,9]	0,0003
MIP-1a	10500 [1760–11100]	870 [610–1630]	0,0005
MIG	3,1 [2,78–19,3]	14,3 [2,92–32,6]	0,15
ENA-78	6,21 [5,33–6,64]	6,13 [5,54–7,51]	0,72
MIP-3a	53,3 [28,5–92,9]	12,2 [4,58–46,2]	0,005
GROα	79,9 [74,1–85,1]	78,6 [73,4–89,5]	0,74
I-TAC	18,5 [10,8–31,2]	24 [9,94–50,1]	0,40
MIP-1b	42,9 [40,3–46,8]	42,9 [41,2–45,5]	0,88

Примечание. * – Me [P25–P75]; сравнение групп по критерию Уилкоксона.

Таблица 3

Уровень исследуемых веществ у мужчин и женщин с РТК (нг/мл)

The level of test substances in men and women with colon cancer (pg/ml)

Table 3

Исследуемые вещества	Женщины* (n = 32)	Мужчины* (n = 31)	p
I-TAC	12,1 [11,33–30,15]	37,4 [18,2–47,12]	0,013
VEGF	733 [406–866]	414 [209–697]	0,011

Примечание. * – Me [P25–P75]; сравнение групп по критерию Уилкоксона.

Таблица 4

Уровень исследуемых веществ у мужчин и женщин контрольной группы (нг/мл)

The level of test substances in men and women of the control group (pg/ml)

Table 4

Исследуемые вещества	Женщины* (n = 12)	Мужчины* (n = 13)	p
I-TAC	14,4 [9,02–38,5]	33,2 [14–51,3]	0,017
ENA-78	6,04 [5,33–6,52]	6,3 [5,81–8,01]	0,048
IP-10	31,1 [22–47,7]	44,4 [28,2–55,1]	0,046
IL-8	17,3 [16,3–18,2]	18,5 [16,9–20]	0,027

Примечание. * – Me [P25–P75]; сравнение групп по критерию Уилкоксона.

Таблица 5

Уровень исследуемых веществ у пациентов разных возрастных групп (нг/мл)

The level of test substances in patients of different age groups (pg/ml)

Table 5

Пациенты	Факторы роста	Возрастная группа*		p
		20–49 лет	50–75 лет	
Основная группа (n = 63)	Ang-2	3,8 [2,8–10,3]	12,7 [6,6–13,68]	0,022
	G-CSF	10,7 [4,5–19,6]	26,4 [13,5–76]	0,04
Группа клинического сравнения (n = 25)	EPO	104,54 [56,12–148,2]	245,6 [177,3–853,43]	0,037
	M-CSF	43,3 [40,6–81,8]	95,2 [59,1–697,2]	0,013
	PDGF-AA	661,7 [140,1–956,8]	4222,8 [908,22–10583,76]	0,037
	PDGF-BB	3310,72 [2702,6–5031,3]	12074,8 [1332,2–15353,58]	0,022
	VEGF	234,52 [122,9–541,2]	536 [342,14–879,99]	0,051

Примечание. * – Me [P25–P75]; сравнение групп по критерию Уилкоксона.

Таблица 6

Уровень исследуемых веществ у пациентов с разной степенью дифференцировки (нг/мл)

The level of test substances in patients with different degrees of differentiation (pg/ml)

Table 6

Исследуемые вещества	Высокодифференцированная опухоль* (n = 14)	Умеренно дифференцированная опухоль* (n = 46)	p
TGF-α	8,57 [7,44–9,57]	7,32 [6,56–8,15]	0,015
HGF	427 [309–785]	238 [151–511]	0,014
Eotaxin	64,4 [55,1–73,4]	53,7 [47,8–65,9]	0,026
MIP-1β	41,6 [38,4–42,3]	43,2 [41,4–46,1]	0,024
GROα	74,6 [40,3–78,7]	79,7 [75,1–90,3]	0,043

Примечание. * – Me [P25–P75]; сравнение групп по критерию Уилкоксона.

Таблица 7

Уровень исследуемых веществ у пациентов с разной формой роста опухоли (нг/мл)

The level of test substances in patients with different forms of tumor growth (pg/ml)

Table 7

Факторы роста	Инфильтративно-язвенная форма* (n = 48)	Экзофитная форма* (n = 14)	p
G-CSF	18,8 [10,9–28,7]	46,1 [18,5–91,5]	0,039
HGF	261 [164–453]	533 [308–715]	0,038
TGF-α	7,28 [6,52–8,16]	8,32 [7,35–12,7]	0,021

Примечание. * – Me [P25–P75]; сравнение групп по критерию Уилкоксона.

Пациенты основной и контрольной группы были условно разделены на две возрастные группы (20–49 и 50–75 лет). Именно данный возрастной диапазон наиболее ярко показывает разницу между основной и контрольной группами по уровню исследуемых веществ. У пациентов с РТК после 50 лет увеличивался уровень Ang-2, G-CSF, а у представителей контрольной группы – EPO, M-CSF, PDGF-AA, PDGF-BB и VEGF. Таким образом, установлены статистически значимые возрастные и гендерные отличия пациентов с РТК от практически здоровых лиц.

По результатам анализа степени дифференцировки и форм роста опухоли представлены только высоко- и умеренно дифференцированные опухоли с инфильтративно-язвенной и экзофитной формами роста. Низкая дифференцировка и смешанная форма роста не имела статистической значимости ввиду малого количества. Выявлено, что TGF-α, HGF и Eotaxin выше у пациентов при высокодифференцированной опухоли, а MIP-1β, GROα – при умеренно дифференцированной. В свою очередь G-CSF, HGF и TGF-α были выше при экзофитной форме, чем при инфильтративно-язвенной.

По локализации сравнение не проводилось, так как в исследовании участвовали опухоли только левой половины толстой кишки, где состав кишечной микробиоты кардинально не отличается между собой.

В результате сравнения микробиоты толстой кишки онкологических больных и группы клинического сравнения выявлены статистически значимые отличия количественного состава *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp., *Enterococcus* spp., *E. coli* (типичные), *E. coli* (лактозонегативные), *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* spp. (CNS) и *Candida* spp. У пациентов с раком толстой кишки в неизменённой слизистой толстой кишки *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *E. coli* (типичные) оказалось больше, а *E. coli* (гемолитические), *E. coli* (лактозонегативные), *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. – меньше, чем в опухолевой ткани (табл. 8–10).

Выявлены закономерности изменения количественного состава кишечной микробиоты толстой кишки, а также колебаний уровня исследуемых веществ в плазме крови при РТК.

Дополнительно исследован уровень НР в слизистой толстой кишки основной и контрольной групп.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проблемы поиска дополнительных способов диагностики РТК являются чрезвычайно актуальными и требуют усилий учёных разных специальностей. В ряде работ установлено, что при исследовании биопсийного материала у пациентов с раком толстой кишки выявлено, что представители некоторых родов микроорганизмов

Состав кишечной микробиоты больных раком толстой кишки

Таблица 8

The composition of the intestinal microbiota of patients with colon cancer

Table 8

Микроорганизмы	Количество микроорганизмов*		p
	Неизменённая слизистая	Опухолевая ткань	
<i>Lactobacillus</i> spp.	6,6 [6–8]	5,5 [5–6]	0,003
<i>Bifidobacterium</i> spp.	6,9 [6–8]	5,6 [5–7]	0,001
<i>Clostridium</i> spp.	2,9 [2–3]	3,7 [2–5]	0,004
<i>E. coli</i> (типичные)	5,4 [5–6]	4,6 [3–6]	0,001
<i>E. coli</i> (гемолитические)	3,1 [3–4]	5,3 [3–6]	0,003
<i>E. coli</i> (лактозонегативные)	3,3 [3–4]	3,7 [3–4]	0,004
<i>Enterobacteriaceae</i>	3,4 [4–5]	3,8 [3–5]	0,001
<i>Pseudomonas</i> spp.	3,0 [3–4]	3,2 [3–4]	0,008

Примечание. * – количество микроорганизма в 1 г биоптата (lg = 10¹ КОЕ/г)

Состав кишечной микробиоты больных раком толстой кишки и группы клинического сравнения

Таблица 9

The composition of the intestinal microbiota of patients with colon cancer and the clinical comparison group

Table 9

Микроорганизмы	Количество микроорганизмов*		p
	Неизменённая слизистая пациентов с раком толстой кишки	Группа клинического сравнения	
<i>Bifidobacterium</i> spp.	6,9 [6–8]	7,6 [7–9]	0,026
<i>Bacteroides</i> spp.	5,5 [5–7]	6,3 [6–7]	0,043
<i>Clostridium</i> spp.	2,9 [2–3]	2,2 [2–3]	0,001
<i>Enterococcus</i> spp.	4,3 [4–5]	5,4 [5–6]	< 0,0001
<i>E. coli</i> (типичные)	5,4 [5–6]	6,1 [6–7]	0,049
<i>Staphylococcus</i> spp. (CNS)	3,0 [3–4]	3,1 [3–4]	0,002
<i>Candida</i> spp.	3,0 [3–4]	3,2 [3–4]	< 0,0001

Примечание. * – количество микроорганизма в 1 г биоптата (lg = 10¹ КОЕ/г).

Состав кишечной микробиоты больных раком толстой кишки и группы клинического сравнения

Таблица 10

The composition of the intestinal microbiota of patients with colon cancer and the clinical comparison group

Table 10

Микроорганизмы	Количество микроорганизмов*		p
	Опухолевая ткань пациентов с раком толстой кишки	Группа клинического сравнения	
<i>Lactobacillus</i> spp.	5,5 [5–6]	6,5 [6–9]	0,002
<i>Bifidobacterium</i> spp.	5,6 [5–7]	7,6 [6–8]	0,001
<i>Clostridium</i> spp.	3,7 [2–5]	2,2 [2–3]	0,001
<i>Enterococcus</i> spp.	4,5 [4–5]	5,4 [5–6]	0,0002
<i>E. coli</i> (типичные)	4,6 [3–6]	6,1 [6–7]	0,009
<i>E. coli</i> (лактозонегативные)	3,7 [3–4]	3,1 [3–4]	0,002
<i>Enterobacteriaceae</i>	3,8 [3–5]	5,3 [5–6]	0,029
<i>Staphylococcus</i> spp. (CNS)	3,0 [3–4]	3,3 [3–4]	< 0,0001
<i>Candida</i> spp.	3,0 [3–4]	3,2 [3–4]	0,002

Примечание. * – количество микроорганизма в 1 г биоптата (lg = 10⁴ КОЕ/г)

Уровень HP в слизистой толстой кишки основной и контрольной групп

Таблица 11

HP level in the colon mucosa of the study and control groups

Table 11

Исследуемый материал	Количество пациентов				Всего пациентов
	Тест-система ХЕЛПИЛ		ПЦР		
	с HP	без HP	с HP	без HP	
Опухолевая ткань	48	15	2	61	63
Неизменённая слизистая пациентов с РТК	48	15	5	58	
Слизистая кишки пациентов контрольной группы	0	25	0	25	25

(*Escherichia/Shigella*, *Bacteroides*, *Faecalibacterium*, *Prevotella*, *Oribacterium*, *Corynebacterium*, *Enterococcus*, *Neisseria*, *Porphyromonas* и *Akkermansia*) значительно различались между опухолью и визуально неизменённой слизистой толстой кишки ($p < 0,05$) [9, 10]. В нашем исследовании прослеживается рост количества *Clostridium* spp. и снижение *Bifidobacterium* spp. и *E. coli* в толстой кишке в условиях рака в сравнении со слизистой здорового человека ($p < 0,05$); выявлена чёткая тенденция как увеличения (EGF, HGF, M-CSF, PDGF-AA, PDGF-BB, IP-10), так и уменьшения (MCP-1, RANTES) уровня хемокинов и факторов роста в условиях РТК. Поскольку невозможно проследить трансформацию слизистой от здоровой до опухоли в условиях одного человека, в качестве оптимальной основы нами взята кишечная микробиота здоровых лиц.

Научной новизной нашего исследования является оценка зависимости уровня микроорганизмов, хемокинов и факторов роста от пола пациента и формы роста опухоли. Дополнительным диагностическим маркёром злокачественной опухоли у мужчин является наличие более высокого уровня *Lactobacillus* spp., *Bacteroides* spp., *Bifidobacterium* spp., *E. coli* (типичные) ($p < 0,05$), чем у женщин. Обнаружено, что у мужчин с раком толстой кишки уровень VEGF ниже, а I-TAC выше в несколько раз в сравнении с женщинами. В свою очередь в контрольной группе у здоровых мужчин значительно выше уровень I-TAC, ENA-78, IP-10, IL-8, чем у женщин ($p < 0,05$), что может служить доказательством взаимного влияния опухолевого процесса на уровень определённых веществ в плазме крови.

В отличие от имеющихся в литературе сведений о клинко-морфологических характеристиках опухоли [11, 12], нами обнаружена чёткая корреляционная связь (коэффициент корреляции Спирмена) между дифференцировкой опухолевых клеток и уровнем TGF- α , HGF, Eotaxin, GRO α и MIP-1 α . При сравнении форм роста опухоли в настоящем исследовании статистически значимо подтверждено повышение уровня G-CSF, HGF, TGF- α именно при экзофитной форме роста опухоли. В свою очередь *E. coli* (гемолитические) чаще ассоциирована с экзофитной опухолью, а *Enterobacteriaceae* – с эндофитной. Наряду с этим выявлено, что у больных РТК в возрасте 50–75 лет уровень Angio protein-2 и G-CSF более высокий, чем в возрасте 20–49 лет ($p < 0,05$).

В настоящем исследовании выявлено малое количество случаев HP-положительных пациентов (7 человек), поэтому в статистической обработке эти данные не использовались.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Состав стандартной пристеночной аэробной кишечной микробиоты, более устойчивой по составу чем фекальной, и уровень цитокинов в крови онкологических пациентов может использоваться в качестве дополнительных критериев в диагностике рака толстой кишки. Биологические механизмы, объясняющие выявленные закономерности, пока недостаточно изучены. Можно предположить, что имеется взаимосвязь между синтезом ряда биологически активных веществ и характером

кишечной микробиоты в результате злокачественной трансформации слизистой толстой кишки. Детализация механизмов указанных взаимосвязей требует дальнейшего изучения.

Вместе с тем установленные в данной работе статистически значимые связи между изменением количественного состава кишечной микробиоты, уровнем определённых биологически активных веществ (факторов роста, хемокинов) в условиях РТК с такими параметрами, как возраст, пол пациента, форма роста и степень дифференцировки опухоли, могут иметь диагностическое значение.

ВЫВОДЫ

1. Уровень содержания некоторых биологически активных веществ в плазме крови и количественный состав стандартной пристеночной кишечной микробиоты больных РТК, с учётом гендерных и возрастных особенностей, заметно отличается от таковых в группе людей с неопухоловой патологией, что может быть использовано в диагностике РТК.

2. Среди пациентов с РТК установлено статистически значимое отличие показателей количественного состава кишечной микробиоты, а также отдельных хемокинов и факторов роста в зависимости от макроскопического типа и степени дифференцировки опухоли.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Hernández-Luna MA, López-Briones S, Luria-Pérez R. The four horsemen in colon cancer. *J Oncol*. 2019; doi: 10.1155/2019/5636272

2. Bahmani S, Azarpira N, Moazamian E. Anti-colon cancer activity of Bifidobacterium metabolites on colon cancer cell line SW742. *Turk J Gastroenterol*. 2019; 30(9): 835-842. doi: 10.5152/tjg.2019.18451

3. Kistner L, Doll D, Holtorf A, Nitsche U, Janssen KP. Interferon-inducible CXC-chemokines are crucial immune modulators and survival predictors in colorectal cancer. *Oncotarget*. 2017; 8(52): 89998-90012. doi: 10.18632/oncotarget.21286

4. De la Fuente López M, Landskron G, Parada D, Dubois-Camacho K, Simian D, Martinez M, et al. The relationship between chemokines CCL2, CCL3, and CCL4 with the tumor microenvironment and tumor-associated macrophage markers in colorectal cancer. *Tumour Biol*. 2018; 40(11): 1010428318810059. doi: 10.1177/1010428318810059

5. Üçüncü M, Serilmez M, Sarı M, Bademler S, Karabulut S. The diagnostic significance of PDGF, EphA7, CCR5, and CCL5 levels in colorectal cancer. *Biomolecules*. 2019; 9(9): 464. doi: 10.3390/biom9090464

6. Krzystek-Korpacka M, Zawadzki M, Kapturkiewicz B, Lewandowska P, Bednarz-Misa I, Gorska S, et al. Subsite heterogeneity in the profiles of circulating cytokines in colorectal cancer. *Cytokine*. 2018; 110: 435-441. doi: 10.1016/j.cyto.2018.05.015

7. Lian G, Chen S, Ouyang M, Li F, Chen L, Yang J. Colon cancer cell secretes EGF to promote M2 polarization of TAM through EGFR/PI3K/AKT/mTOR pathway. *Technol Cancer Res Treat*. 2019; 18: 1533033819849068. doi: 10.1177/1533033819849068

8. Herrera A, Herrera M, Guerra-Perez N, Galindo-Pumariño C, Larriba MJ, García-Barberán V, et al. Endothelial cell activation on 3D-matrices derived from PDGF-BB-stimulated fibroblasts is mediated by Snail1. *Oncogenesis*. 2018; 7(9): 76. doi: 10.1038/s41389-018-0085-z

9. Sheng QS, He KX, Li JJ, Zhong ZF, Wang FX, Pan LL, et al. Comparison of gut microbiome in human colorectal cancer in paired tumor and adjacent normal tissues. *Oncotargets Ther*. 2020; 13: 635-646. doi: 10.2147/OTT.S218004

10. Zorron Cheng Tao Pu L, Yamamoto K, Honda T, Nakamura M, Yamamura T, Hattori S, et al. Microbiota profile is different for early and invasive colorectal cancer and is consistent throughout the colon. *J Gastroenterol Hepatol*. 2020; 35(3): 433-437. doi: 10.1111/jgh.14868

11. Sinha A, Kumar S. Prognostic value of Epidermal growth factor receptor in colorectal carcinoma. *J Clin Diagn Res*. 2018; 12(3): 1-4. doi: 10.7860/JCDR/2018/34864.11234

12. Mouzakiti A, Nastos C, Vlachodimitropoulos D, Genatas C, Kondi-Pafiti A, Voros D. Prognostic significance of EGFR and COX-2 expression in colorectal cancer and their association. A study in Greek population. *J BUON*. 2018; 23(1): 23-28.

Сведения об авторах

Волков Степан Владимирович – ассистент кафедры онкологии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: vsv_19@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8696-9562>

Лобанов Сергей Леонидович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой факультетской хирургии с курсом урологии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: slobanov15@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1665-3754>

Information about the authors

Stepan V. Volkov – Teaching Assistant at the Department of Oncology, Chita State Medical Academy, e-mail: vsv_19@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8696-9562>

Sergey L. Lobanov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Faculty Surgery with a Course of Urology, Chita State Medical Academy, e-mail: slobanov15@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1665-3754>

Статья поступила: 01.02.2021. Статья принята: 07.04.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.

Received: 01.02.2021. Accepted: 07.04.2021. Published: 15.06.2021.