

Состояние системы иммунитета у пациентов с лейкоплакией и плоскоклеточным раком слизистой оболочки рта

Н.А. Карпук, О.В. Ищенко

Витебский государственный медицинский университет, Витебск

The state of the immune system in patients with leukoplakia and squamous cell carcinoma of the oral mucosa

N.A. Karpuk, A.U. Ishchanka

Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Belarus

Аннотация

Одним из патогенетических звеньев злокачественной трансформации слизистой оболочки рта (СОР) являются нарушения пролиферации и дифференцировки эпителия с развитием плоскоклеточное интраэпителиальное поражение низкой степени (LSIL). Изучение иммунного статуса пациентов с плоскоклеточным раком СОР (ПРСОР) и лейкоплакией СОР (ЛСОР) с учётом морфологической гетерогенности являются весьма актуальным научным направлением.

Цель исследования – оценить иммунный статус пациентов с ЛСОР с учётом морфологической гетерогенности и выявить различия между пациентами с ПРСОР и здоровыми лицами.

Материал и методы. Исследование выполнено по протоколу открытого когортного исследования. В исследование включали пациентов с ЛСОР (n=66), а также с ПРСОР (n=33). Группу сравнения составили здоровые добровольцы (n=30). Пациенты с ЛСОР были разделены на группы: с LSIL (n=34) и без (n=32).

Выводы. У обследованных пациентов с ЛСОР и LSIL выявлены признаки дисфункции системы иммунитета, а именно снижение количества цитотоксических Т CD8+CD69+ лимфоцитов и повышение уровня IL-18 по сравнению с группой ЛСОР без LSIL и здоровыми лицами.

У пациентов с ПРСОР выявлено значительные изменения иммунного статуса: снижение количества цитотоксических Т CD8+CD69+ лимфоцитов и В лимфоцитов с экспрессией костимулирующего рецептора CD19+CD40+ с повышением уровней моноцитов CD14+; в периферической крови были обнаружены CD34+CD45- клетки и высокие сывороточные уровни провоспалительных цитокинов: IL-1 β , IL-6, IL-18, MCP-1.

У пациентов ЛСОР без LSIL достоверных изменений исследованных системных показателей иммунного статуса не выявлено.

Ключевые слова

Лейкоплакия слизистой оболочки рта, опухолевая трансформация, плоскоклеточный рак слизистой оболочки рта, CD34+, CD14+, CD40+, CD69+.

Summary

One of the pathogenetic stages in the malignant transformation of oral mucosa (OM) is the disruption of proliferation and differentiation of the epithelium with the development of low-grade squamous intraepithelial lesions (LSIL). The study of the immune status of patients with oral squamous cell carcinoma (OSCC) and oral leukoplakia (OL), taking into account the morphological heterogeneity, is a very relevant scientific direction.

The aim of the study was to assess the immune status of patients with OL while accounting for morphological heterogeneity, and to identify differences between patients with OSCC and healthy individuals.

Material and methods. The study was conducted in accordance with the open cohort study protocol. The study included patients with IL (n=66) and OSCC (n=33). The comparison group consisted of healthy volunteers (n=30). Patients with IL were divided into groups: patients with LSIL (n=34) and without (n=32).

Conclusions. The examined patients with OL and LSIL showed signs of dysfunction of the immune system, namely a decrease in the number of cytotoxic T CD8+CD69+ lymphocytes and an increase in the level of IL-18 compared to the OL group without LSIL and healthy individuals.

In patients with OSCC, significant changes in the immune status were revealed: a decrease in the number of cytotoxic T CD8+CD69+ lymphocytes and B lymphocytes with expression of the costimulating receptor CD19+CD40+ with an increase in the levels of CD14+ monocytes; CD34+CD45- cells and high serum levels of proinflammatory cytokines were detected in the peripheral blood: IL-1 β , IL-6, IL-18, MCP-1.

In patients with OL without LSIL, no significant changes in the studied systemic indicators of immune status were detected.

Keywords

Leukoplakia of the oral mucosa, tumor transformation, squamous cell carcinoma of the oral mucosa, CD34+, CD14+, CD40+, CD69+.

Актуальность

Подавляющее количество злокачественных новообразований слизистой оболочки рта (СОР) приходится на плоскоклеточный рак. Плоскоклеточный рак СОР (ПРСОР) развивается, как правило, в исходе предшествующих предопухольных заболеваний, ведущим из которых является лейкоплакия [1].

Основное клиническое значение, предопухольных заболеваний слизистой оболочки рта (ПЗСОР) заключается в значительном канцерогенном потенциале. Средний уровень злокачественной трансформации, например при лейкоплакии СОР (ЛСОР), для всей популяции, описанный в 55 исследованиях, составляет 6,64% [2].

Одним из патогенетических звеньев злокачественной трансформации СОР являются нарушения пролиферации и дифференцировки эпителия с развитием дисплазии: LSIL (low-grade squamous intraepithelial lesions – плоскоклеточное интраэпителиальное поражение низкой степени) и HSIL (high grade squamous intraepithelial lesions – интраэпителиальное поражение тяжелой степени) [3].

Несмотря на то, что СОР – визуально доступная локализация, как для пациента, так и для врача, обращение за помощью осуществляется на поздних сроках, когда злокачественный процесс находится уже на поздних стадиях [4].

Показано, что прогрессирование злокачественности связано с подавлением иммунитета посредством инфильтрации регуляторных Т-клеток (56%), истощения цитотоксических Т-клеток (68%) и антигенпрезентирующих дендритных клеток (72%), с сопутствующим усилением воспаления (92%) [5].

Цитокины являются регуляторами микроокружения опухоли и хронического проонкогенного воспаления. Исследования подтвердили решающую роль провоспалительных цитокинов в процессе канцерогенеза ПРСОР.

IL-1 α модулирует различные пути, способствующие росту, включая антиапоптотическую передачу сигналов и клеточную пролиферацию. Было также отмечено, что IL-1 α , высвобождаемый из клеток ПРСОР, стимулирует связанные с опухолью фибробласты, способствуя инвазии рака.

Выявлена экспрессия IL-1 α , IL-6, IL-18 и TNF- α в эпителиальных клетках при ЛСОР, а не присутствовал в эпителиальных клетках образцов, оцениваемых как нормальная СОР, в образцах ЛСОР его уровень был наименьшим, а уровень TNF- α – наибольшим [8].

Моноцитарный хемотаксический белок (MCP-1) принадлежит к семейству СС-хемокинов. Он

играет важную роль в процессе воспаления, привлекая или усиливая экспрессию других воспалительных факторов/клеток. Это приводит к развитию многих заболеваний посредством миграции и инфильтрации воспалительных клеток, таких как моноциты/макрофаги и другие цитокины [9].

Система иммунитета в целом, и мукозальный иммунитет полости рта в частности, синхронно участвуют в различных патологических процессах, таких как вирусная и кандидозная инфекции, системные воспалительные и аутоиммунные заболевания, а также ПЗСОР и ПРСОР. Иммунологический надзор является важным фактором в поддержании большинства ПЗСОР в состоянии покоя. Данные предыдущих исследователей свидетельствуют о том, что ранняя стадия процесса канцерогенеза опухоли связана с изменениями иммунного ответа, количества и функции иммунных клеток и уровней цитокинов [10].

Поэтому изучение иммунного статуса пациентов с ПРСОР и ЛСОР с учётом морфологической гетерогенности являются весьма актуальным научным направлением.

Цель работы. Оценить иммунный статус пациентов с ЛСОР с учётом морфологической гетерогенности и выявить различия между пациентами с плоскоклеточным раком полости рта и здоровыми лицами.

Материалы и методы

Исследование выполнено по протоколу открытого когортного исследования. В исследование включали пациентов с лейкоплакией слизистой оболочки рта (ЛСОР) (n=66), а также с плоскоклеточным раком СОР (n=33). Группу сравнения составили здоровые добровольцы (n=30). Пациенты с ЛСОР были разделены на группы: с LSIL (n=34) и без (n=32). Все участники исследования дали и собственноручно заполнили добровольное информированное согласие.

Демографическая характеристика и статус курения участников исследования представлена в таблице 1.

Группы были однородны по возрасту, полу, продолжительности заболевания, курению, употреблению алкоголя и сопутствующим заболеваниям.

В ходе исследования в периферической крови определяли относительное содержание цитотоксических лимфоцитов (CD8+), в том числе активированных, (CD8+CD69+), моноцитов (CD14+CD45+), В лимфоцитов, экспрессирующих костимулирующий белок CD40 (CD19+ CD40+), предшественников миелопоэза (CD34+CD45+),

опухолевых клеток (CD34+CD45-), а также цитокины: интерлейкин (IL)-1 β , IL-6, IL-18, MCP-1, TNF- α .

Исследование образцов крови добровольцев осуществляли в научно-исследовательской лаборатории Витебского государственного медицинского университета методом проточной цитофлуориметрии. Для анализа забирали 5 мл крови из локтевой вены натощак в утреннее время в стерильную пробирку с гепарином (20 ед/мл). Анализ образцов клеточных суспензий проводили на проточном цитофлуориметре «Cytomics FC 500» («Becton Dickinson», США). Обработку материала проводили в соответствии с инструкциями изготовителя наборов моноклональных антител производства Invitrogen Corporation (США), Beckman Coulter, Thermo Fisher.

Статистический анализ результатов проведён с использованием компьютерных программ Statistica 10.0, Microsoft Office Excel 2020. Применяли непараметрические методы анализа данных, значение показателей представлены в виде – медиана и величины интерквартильного размаха (Me(25%;75%)). Значения $p < 0,05$ считали статистически значимыми.

Результаты

Оценка субпопуляций лейкоцитов крови пациентов различных групп

Были обнаружены отличия в группах по составу субпопуляций лейкоцитов периферической крови пациентов с лейкоплакией, плоскоклеточным раком и здоровых лиц (табл. 2).

В группе пациентов с раком СОР обнаружено снижение уровня Т-лимфоцитов киллеров с экспрессией маркера ранней активации CD8+CD69+ и В-лимфоцитов с экспрессией костимулирующего рецептора CD19+CD40+ как в сравнении с контрольной группой (CD8+CD69+ $p_{3,4}=0,003$; CD19+CD40+ $p_{3,4}=0,034$), так и с группой пациентов с лейкоплакией без дисплазии (CD8+CD69+ $p_{3,1}=0,001$; CD19+CD40+ $p_{3,1}=0,043$). В группе пациентов с ЛСОР и LSIL CD8+CD69+ клеток было также меньше, по сравнению со здоровыми лицами и пациентами ЛСОР без LSIL ($p_{2,4}=0,015$; $p_{2,1}=0,012$).

В то же время количество моноцитов CD14+ напротив был выше у пациентов с раком СОР, по сравнению с другими группами ($p_{3,1}=0,039$; $p_{3,2}=0,001$; $p_{3,4}=0,009$). Различий не было выявлено между группами по уровням общих Т-лимфоцитов киллеров CD8+, В-лимфоцитов CD19+, гемопоэтических стволовых клеток CD34+CD45+. Однако, были обнаружены

CD34+CD45- клетки (183,5 клетки на 100000 клеток) у пациентов раком СОР, в отличие от других групп пациентов, где среднее количество не превышало 0,15-0,25 клеток на 100000 клеток ($p_{3,1} < 0,001$, $p_{3,2} < 0,001$, $p_{3,4} < 0,001$).

Уровни цитокинов в сыворотке периферической крови пациентов различных групп

При исследовании цитокинов в сыворотке крови у пациентов с раком СОР обнаружено увеличение уровня IL-1 β по сравнению с другими группами ($p_{3,1}=0,007$; $p_{3,2}=0,027$; $p_{3,4}=0,002$) (табл. 3).

Это превышение не выходило за рамки референтных величин (0-12 пг/мл). Уровень провоспалительного цитокина IL-6 также же был повышен в группе пациентов с раком СОР по сравнению с другими группами пациентов ($p_{3,1} < 0,001$; $p_{3,2}=0,017$; $p_{3,4} < 0,001$) без превышения референтного значения (0-7 пг/мл). Кроме того, уровень IL-6 в группе пациентов с ЛСОР и LSIL был выше, чем в группе пациентов ЛСОР без дисплазии ($p_{2,1}=0,039$) и в группе здоровых лиц ($p_{2,4}=0,025$).

Содержание IL-18 в сыворотке крови пациентов с ПРСОР превышало значения групп сравнения ЛСОР без дисплазии и здоровых пациентов в 2 раза - 678(451;850) пг/мл против 310(238;437) пг/мл ($p_{3,1} < 0,001$) и 313(245;431) пг/мл ($p_{3,4} < 0,001$). Уровень IL-18 в сыворотке крови пациентов ЛСОР с дисплазией был так же выше медианного уровня этого цитокина в группах сравнения ЛСОР без дисплазии и здоровых пациентов ($p_{2,1}=0,028$; $p_{2,4}=0,011$), без различий с группой пациентов с ПРСОР ($p_{2,3}=0,356$).

Уровень MCP-1 в группе РСОР был выше в 4 раза этого показателя в других группах пациентов ($p_{3,1} < 0,001$; $p_{3,2}=0,036$; $p_{3,4} < 0,001$).

Не выявлено различий в группах в уровнях сывороточного TNF α .

Обсуждение результатов

Нами впервые проведена сравнительная оценка иммунного статуса пациентов с лейкоплакией (с LSIL и без) и пациентов с плоскоклеточным раком СОР. Для оценки нами были выбраны некоторые важные системные показатели и биомаркеры противоопухолевого иммунитета, а именно: цитотоксические лимфоциты CD8+, в том числе активированные CD8+CD69+, моноциты CD14+CD45+, В лимфоциты, в том числе, экспрессирующие костимулирующий белок CD40 CD19+ CD40+, предшественников миелопоэза CD34+CD45+, опухолевые клетки

Таблица 1. Демографическая характеристика пациентов при исследовании иммунного статуса (Me(25%;75%))

Группы пациентов	Возраст, годы Me [25%; 75%]	Пол, мужской/женский	История курения, n		
			никогда	бывший курильщик	курящий в настоящее время
ЛСОР без дисплазии эпителия, n=34	53 [46; 74]	18/16	8	7	19
ЛСОР и LSIL, n=32	49 [41; 68]	18/14	8	7	17
ПРСОР, n=33	54 [45; 72]	15/18	7	7	16
Здоровые лица, n=30	51 [40; 67]	16/14	11	6	13

Таблица 2. Сравнительные показатели фенотипа лейкоцитов крови у обследованных пациентов (Me(25%;75%))

Показатель	Группы				P _{К-У1}
	1	2	3	4	
	ЛСОР без LSIL, n=34	ЛСОР и LSIL, n=32	ПРСОР, n=33	Здоровые лица, n=30	
Относительно лимфоцитов, %					
CD8+	25,5(21,9;34,5)	20,7(18,9;29,5)	20,5(19,7;31,8)	21,3(20,9;29,2)	0,986
CD8+CD69+	2,8(2,0;3,1)	1,1(0,2;2,3)*	0,9(0,6;1,7)Ω	2,6(1,0;2,9)	0,005
CD19+	10,5(8,5;13,7)	11,5(8,5;12,9)	12,6(9,1;13,1)	13,1(9,9;13,1)	0,542
CD19+ CD40+	6,2(5,9;8,9)	7,5(4,6;7,5)	3,4(2,6;5,6)Ω	5,5(3,4;6,4)	0,032
Относительно лейкоцитов, %					
CD14+	8,1(0,3;9,2)	6,5(1,5;8,6)	14(2,5;15,5)Ω	6,9(1,2;9,4)	0,006
CD34+CD45+	0,15(0,11;1,6)	0,11(0,11;1,3)	0,32(0,22;0,9)	0,2(0;0,2)	0,376

Примечания:

1. P К-У – критерий Краскела-Уоллиса.

2. При P К-У<0,05 попарное сравнение между группами методом Ньюмена-Кейлса.

Таблица 3. Сравнительные показатели уровней цитокинов в сыворотке крови у обследованных пациентов (Me(25%;75%))

Показатель, пг/мл	Группы				P _{К-У1}
	1	2	3	4	
	ЛСОР без дисплазии эпителия, n=34	ЛСОР и LSIL, n=32	ПРСОР, n=33	Здоровые лица, n=30	
IL-1β	1,4(0;3,6)	3,2(0;4,5)	8,7(7,9;12,5)	1,2(0;5,6)	0,047
IL-6	0(0;2,7)	3,5(0;5,4)	5,8(2,6;7,7)	0(0;1,4)	0,001
IL-18	310(238;437)	498(222;729)	678(451;850)	313(245;431)	0,001
MCP-1	112(95;161)	153(115;174)	453(320;543)	108(88;149)	0,032
TNFα	0(0;7,8)	0(0;8,6)	0(0;6,8)	0(0;6,1)	0,901

CD34+CD45-, а также цитокины: IL-1β, IL-6, IL-18, MCP-1, TNFα.

Установлено, что у пациентов с раком СОР, как и с лейкоплакией и LSIL количество цитотоксических клеток экспрессирующих CD69 было меньше, чем у здоровых лиц и лиц с ЛСОР без LSIL. Рецептор CD69 является признанным классическим маркером активации лейкоцитов. Он появляется на цитоплазматических мембранах активированных клеток быстрее, чем CD25 и, таким образом, рассматривается как ранний маркер активации лимфоцитов. У пациентов

с повышенной экспрессией CD69 маркеров на Т-киллерах были хорошие показатели выживаемости при обнаружении у них рака. Т-киллеры несущие данные маркер являются активированными и в таком состоянии быстро обнаруживают и уничтожают опухолевые клетки, проявляют повышенную цитотоксичность в отношении различных опухолевых клеток.

Важной функцией CD69 является его регуляторная роль. Он может способствовать резидентности клеток в тканях, регулировать дифференцировку клеток в сторону Th17/Treg и спо-

способствовать истощению резидентных Т-клеток памяти, особенно в микроокружении опухоли. Недавно было обнаружено, что CD69 конститутивно экспрессируется в резидентных CD8+, CD4+, Treg, $\gamma\delta$ Т-клетках, врождённых лимфоцитах, естественных киллерных Т-клетках во всех тканях и дендритных клетках кожи [11]. Учитывая, что репопуляция погибших при ответе на инфекцию тканерезистентных клеток осуществляется как в результате пролиферации оставшихся, так и за счёт миграции в ткани клеток костномозгового происхождения, вероятно низкий уровень циркулирующих CD8+CD69+ лимфоцитов у пациентов с раком слизистой ротовой полости и пациентов с лейкоплакией с дисплазией связан с повышенной миграцией клеток в ткани. CD69-положительные тканерезистентные лимфоциты характеризуются экспрессией более высоких уровней ряда молекул, обычно связанных с окончательно истощёнными Т-клетками (PD-1, CD39 и Tox) [12]. Кроме того, в доклинических исследованиях показано, что применение антител к CD69 усиливает противоопухолевые эффекты за счёт активации врождённых и адаптивных Т-клеток [13]. Таким образом, CD69 можно считать целевой молекулой для иммунотерапии рака [14].

Нами также обнаружено снижение количества В-лимфоцитов с экспрессией костимулирующего рецептора CD19+CD40+ в группе пациентов с раком слизистой оболочки ротовой полости. Клетки, несущие этот маркер, способны активно выполнять роль антигенпредставляющих клеток, которые в свою очередь активируют гуморальный противоопухолевый иммунитет, связанный с активацией В-лимфоцитов. Исследования показали, что высокое содержание в крови CD40+ В-лимфоцитов коррелирует с высокой выживаемостью пациентов с раком. А отсутствие CD40 делает В-клетки неспособными регулировать воспалительные иммунные реакции [15].

С другой стороны мы наблюдали повышенный уровень моноцитов CD14+ крови у пациентов с раком слизистой оболочки ротовой полости в отличие от пациентов с лейкоплакией. Увеличенное количество в моноцитов в крови у людей с раком или предраковым состоянием является плохим прогностическим показателем [16]. Повышенное их содержание подавляет иммунные реакции организма против опухолевых клеток за счёт трансформации этих клеток в противовоспалительные клетки, которые в свою очередь активно подавляют Т-клеточный противоопухолевый иммунитет. Так же такие моноциты спо-

собны активно подавлять контрольные точки деления [17], эти ключевые точки обычно нужны для проверки правильного деления клеток. Без этих контрольных точек клетки поделившейся с ошибками не элиминируют, а продолжают бесконтрольно делиться.

Нами были обнаружены CD34+CD45-клетки в периферическом кровотоке у пациентов с раком слизистой ротовой полости. CD34 являются маркером стволовых гемопоэтических клеток, которые способны к бесконечному количеству делений. Повышенная экспрессия CD34 маркеров на клетках крови свидетельствует о высоком риске возникновения рака [18]. Исследования показывают, что клетки, имеющие CD34 маркеры, активно способствуют ангиогенезу, вследствие чего увеличивается риск васкуляризации – это способствует активному развитию и распространению злокачественных опухолей. Кроме того CD34 позитивные клетки выделяют цитокины подавляющие гены-супрессоры опухолевых клеток [19]. Количество стволовых клеток костного мозга может увеличиться в периферической крови в ответ на воспаление, повреждение тканей и различные стрессовые сигналы.

При анализе цитокинового профиля установлено, что у пациентов с раком слизистой ротовой полости повышены уровни провоспалительных цитокинов: IL-1 β , IL-6, IL-18, MCP-1, но не TNF α . У пациентов с лейкоплакией слизистой ротовой полости с дисплазией наблюдали повышенный уровень IL-6 и IL-18. Цитокиновый профиль пациентов с лейкоплакией слизистой ротовой полости без дисплазии не отличался от здоровых лиц.

Известно, что IL1 β является цитокином первой фазы иммунного ответа, он способствует экспрессии молекул адгезии на эндотелиальных клетках и секреции хемокинов стромальными клетками. IL-1 β стимулирует стромальные клетки к выработке большого количества IL-6 и способствует выживанию опухолевых клеток. Уровень IL-1 β в сыворотке крови у пациентов с миеломой увеличился по сравнению со здоровыми контрольными группами [20].

У пациентов с опухолевыми заболеваниями IL-6, по-видимому, является одним из компонентов последовательной сети цитокинов, связанных с раком, что приводит как к системной иммунной стимуляции, так и к микросреде индуцированной раком иммунной супрессии, которая в конечном итоге защищает раковые клетки [21].

Интерлейкин (IL)-18, который относится к надсемейству цитокинов IL-1, является известным интерферон-гамма-индуцирующим фак-

тором (IFN- γ). Поскольку IFN- γ играет важную роль в противораковом иммунитете, опосредованном цитотоксическими Т-клетками, IL-18 также может способствовать функции иммунного надзора. Учитывая свои свойства, повышающие Th1, IL-18 рассматривается как молекула с потенциальной противораковой активностью. Однако в результате сложности биологических функций IL-18, которые зависят от контекста (например, среда цитокинов, различные ткани и контррегуляция IL-18BP), IL-18 может играть различные роли при раке. Хотя доклинические исследования и некоторые клинические испытания показывают, что IL-18 обладает противоопухолевой активностью, другие исследования показывают, что IL-18 играет двойную роль в опухолях, поскольку он может оказывать проинвазивную, проангиогенную и иммунорегулирующую активность в различных моделях опухолей. Высокие уровни IL-18 были обнаружены в опухолевых тканях или в системном кровотоке при раке пищевода, желудка, кишечника, молочной железы, яичников, поджелудочной железы, печени, лёгких, почек, при В клеточной лимфоме и миеломной болезни [22].

Повышенные уровни MCP-1 (монокитарного хемоаттрактантного белка-1) в сыворотке крови связаны прогрессированием и метастазированием различных типов рака. MCP-1, также известный как CCL2, является хемокином, который притягивает и активирует моноциты и макрофаги, что может способствовать росту опухоли, ангиогенезу и уклонению от противоопухолевого иммунитета [23].

В результате выявленных нами изменений иммунного статуса предопухолевых и опухолевых заболеваний ротовой полости можно предположить, что воспалительная среда (L-1 β , IL-6, IL-18, MCP-1), которая, по-видимому, является обязательным компонентом злокачественных опухолей, приводит к дисфункции антигенпрезентирующих клеток (CD19+CD40+) и превращению обычных Т-клеток (CD8+CD69+) в Tregs в микросреде опухоли. Функциональным результатом является нарушение обнаружения антигена и дисфункция эффекторных клеток как врождённой, так и адаптивной систем иммунитета, несмотря на общую среду иммунной стимуляции. Эта дисфункциональная иммуностимуляция может быть одной из причин, по которой моноциты (CD14+) избыточно пролиферируют и притягиваются локально в опухолевые ткани, превращаясь в макрофаги с преимущественно иммунодепрессивным фенотипом.

Выводы

1. Обнаружены отличия в группах по составу субпопуляций лейкоцитов и цитокинового профиля периферической крови пациентов с лейкоплакией, плоскоклеточным раком и здоровых лиц. Выявлено, что в группе пациентов с ЛСОР и LSIL Т активированных лимфоцитов CD8+CD69+ меньше, чем у здоровых лиц и пациентов ЛСОР без LSIL ($p_{2-4}=0,015$; $p_{2-1}=0,012$). В группе пациентов с ППСОР обнаружено снижение уровня Т-лимфоцитов киллеров с экспрессией маркера ранней активации CD8+CD69+ и В-лимфоцитов с экспрессией костимулирующего рецептора CD19+CD40+ как в сравнении с контрольной группой (CD8+CD69+ $p_{3-4}=0,003$; CD19+CD40+ $p_{3-4}=0,034$), так и с группой пациентов с ЛСОР без дисплазии (CD8+CD69+ $p_{3-1}=0,001$; CD19+CD40+ $p_{3-1}=0,043$). Количество моноцитов CD14+ выше у пациентов с ППСОР, по сравнению с другими группами ($p_{3-1}=0,039$; $p_{3-2}=0,001$; $p_{3-4}=0,009$). Различий не выявлено между группами по уровням общих цитотоксических Т-лимфоцитов CD8+, В-лимфоцитов CD19+, гемопоэтических стволовых клеток CD34+CD45+. Обнаружены CD34+CD45-клетки (183,5 клетки на 100000 клеток) у пациентов раком СОР, в отличие от других групп пациентов, где среднее количество не превышало 0,15-0,25 клеток на 100000 клеток ($p_{3-1}<0,001$, $p_{3-2}<0,001$, $p_{3-4}<0,001$). У пациентов с ЛСОР без LSIL достоверных изменений исследованных системных показателей иммунного статуса не выявлено.
2. Уровень провоспалительного цитокина IL-6 в группе пациентов с ЛСОР и LSIL в сыворотке крови выше, чем в группе пациентов ЛСОР без дисплазии ($p_{2-1}=0,039$) и в группе здоровых лиц ($p_{2-4}=0,025$), однако ниже, чем в группе пациентов с ППСОР ($p_{3-1}<0,001$; $p_{3-2}=0,017$; $p_{3-4}<0,001$), но без превышения референтного значения (0-7 пг/мл). Обнаружено увеличение уровня IL-1 β в пределах референтных значений у пациентов с раком СОР по сравнению с другими группами ($p_{3-1}=0,007$; $p_{3-2}=0,027$; $p_{3-4}=0,002$). Уровень IL-18 в сыворотке крови пациентов ЛСОР и LSIL был выше медианного уровня этого цитокина в группах сравнения ЛСОР без дисплазии и здоровых пациентов ($p_{2-1}=0,028$; $p_{2-4}=0,011$), без различий с группой пациентов с ППСОР ($p_{2-3}=0,356$). Содержание IL-18 в сыворотке крови пациентов с ППСОР превышало значения групп сравнения ЛСОР без дис-

плазии и здоровых пациентов в 2 раза – 678(451;850) пг/мл против 310(238;437) пг/мл ($p_{3-1} < 0,001$) и 313(245;431) пг/мл ($p_{3-4} < 0,001$). Уровень MCP-1 в группе пациентов с раком

СОР был выше в 4 раза этого показателя в других группах пациентов ($p_{3-1} < 0,001$; $p_{3-2} = 0,036$; $p_{3-4} < 0,001$). Не выявлено различий в группах в уровнях сывороточного TNF α .

Литература

1. Warnakulasuriya S, Kujan O, Aguirre-Urizar JM, et al. Oral potentially malignant disorders: A consensus report from an international seminar on nomenclature and classification, convened by the WHO Collaborating Centre for Oral Cancer. *Oral Dis.* 2021 Nov;27(8):1862-1880. doi: 10.1111/odi.13704. Epub 2020 Nov 26. PMID: 33128420.
2. Pimenta-Barros LA, Ramos-García P, González-Moles MÁ, et al. Malignant transformation of oral leukoplakia: Systematic review and comprehensive meta-analysis. *Oral Dis.* 2025 Jan;31(1):69-80. doi: 10.1111/odi.15140. Epub 2024 Sep 24. PMID: 39314164.
3. Wils LJ, Poell JB, Evren I, et al. Incorporation of differentiated dysplasia improves prediction of oral leukoplakia at increased risk of malignant progression. *Mod Pathol.* 2020 Jun;33(6):1033-1040. doi: 10.1038/s41379-019-0444-0. Epub 2020 Jan 2. PMID: 31896811.
4. Singh N, Baby D, Rajguru JP, et al. Inflammation and cancer. *Ann Afr Med.* 2019 Jul-Sep;18(3):121-126. doi: 10.4103/aam.aam_56_18. PMID: 31417011; PMCID: PMC6704802.
5. Ghosh A, Das C, Ghose S, et al. Integrative analysis of genomic and transcriptomic data of normal, tumour, and co-occurring leukoplakia tissue triads drawn from patients with gingivobuccal oral cancer identifies signatures of tumour initiation and progression. *J Pathol.* 2022 Aug;257(5):593-606. doi: 10.1002/path.5900. Epub 2022 Apr 21. PMID: 35358331; PMCID: PMC9545831.
6. Chiamulera MMA, Zancan CB, Remor AP, et al. Salivary cytokines as biomarkers of oral cancer: a systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer.* 2021 Feb 27;21(1):205. doi: 10.1186/s12885-021-07932-3. PMID: 33639868; PMCID: PMC7912500.
7. Ferrari E, Pezzi ME, Cassi D, et al. Salivary Cytokines as Biomarkers for Oral Squamous Cell Carcinoma: A Systematic Review. *Int J Mol Sci.* 2021 Jun 24;22(13):6795. doi: 10.3390/ijms22136795. PMID: 34202728; PMCID: PMC8267678.
8. Benito-Ramal E, Egido-Moreno S, González-Navarro B, et al. Role of selected salivary inflammatory cytokines in the diagnosis and prognosis of oral squamous cell carcinoma. A Systematic Review and Meta-analysis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2023 Sep 1;28(5):e474-e486. doi: 10.4317/medoral.25889. PMID: 37099710; PMCID: PMC10499341.
9. Hemmerlein B, Reinhardt L, Wiechens B, et al. Is CCL2 an Important Mediator of Mast Cell-Tumor Cell Interactions in Oral Squamous Cell Carcinoma? *Int J Mol Sci.* 2023 Feb 11;24(4):3641. doi: 10.3390/ijms24043641. PMID: 36835050; PMCID: PMC9963724.
10. Cui G. Immune battle at the premalignant stage of colorectal cancer: focus on immune cell compositions, functions and cytokine products. *Am J Cancer Res.* 2020 May 1;10(5):1308-1320. PMID: 32509381; PMCID: PMC7269793. Johnson SD, Levingston C, Young MR. Premalignant Oral Lesion Cells Elicit Increased Cytokine Production and Activation of T-cells. *Anticancer Res.* 2016 Jul;36(7):3261-70. PMID: 27354582; PMCID: PMC5032137
11. Li Y, Gu Y, Yang P, et al. CD69 is a Promising Immunotherapy and Prognosis Prediction Target in Cancer. *Immunotargets Ther.* 2024 Jan 9;13:1-14. doi: 10.2147/ITTS.S439969. PMID: 38223406; PMCID: PMC10787557.
12. Schenkel JM, Pauken KE. Localization, tissue biology and T cell state - implications for cancer immunotherapy. *Nat Rev Immunol.* 2023;23(12):807-823. doi: 10.1038/s41577-023-00884-8.
13. Sun L, Su Y, Jiao A, et al. T cells in health and disease. *Signal Transduct Target Ther.* 2023 Jun 19;8(1):235. doi: 10.1038/s41392-023-01471-y. PMID: 37332039; PMCID: PMC10277291.
14. Barros L., Piontkivska D., Figueiredo-Campos P., et al. CD8+ tissue-resident memory T-cell development depends on infection-matching regulatory T-cell types. *Nat Commun* 2023;14:5579. doi:10.1038/s41467-023-41364-w
15. Mantani PT, Ljungcrantz I, Andersson L, et al. Circulating CD40+ and CD86+ B cell subsets demonstrate opposing associations with risk of stroke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014 Jan;34(1):211-8. doi: 10.1161/ATVBAHA.113.302667. Epub 2013 Nov 7. PMID: 24202305.
16. Vuk-Pavlović S, Bulur PA, Lin Y, et al. Immunosuppressive CD14+HLA-DRlow/- monocytes in prostate cancer. *Prostate.* 2010 Mar 1;70(4):443-55. doi: 10.1002/pros.21078.
17. Li C, Luo X, Lin Y, et al. A Higher Frequency of CD14+ CD169+ Monocytes/Macrophages in Patients with Colorectal Cancer. *PLoS One.* 2015 Oct 28;10(10):e0141817. doi: 10.1371/journal.pone.0141817.
18. Kulmann-Leal B, Ellwanger JH, Chies JAB. A functional interaction between the CCR5 and CD34 molecules expressed in hematopoietic cells can support (or even promote) the development of cancer. *Hematol Transfus Cell Ther.* 2020 Jan-Mar;42(1):70-76. doi: 10.1016/j.htct.2019.10.001.
19. Hsieh MJ, Chiu TJ, Lin YC, et al. Inactivation of APC Induces CD34 Upregulation to Promote Epithelial-Mesenchymal Transition and Cancer Stem Cell Traits in Pancreatic Cancer. *Int J Mol Sci.* 2020 Jun 23;21(12):4473. doi: 10.3390/ijms21124473.
20. Teimuri Nobari S, Rasmi Y, Khadem Ansari MH. Serum Levels of Interleukin-1 β and Disease Progression in Multiple Myeloma Patients: A Case and Control Study. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2022 Sep 1;23(9):2937-2942. doi: 10.31557/APJCP.2022.23.9.2937. PMID: 36172655; PMCID: PMC9810305.
21. Lippitz BE, Harris RA. Cytokine patterns in cancer patients: A review of the correlation between interleukin 6 and prognosis. *Oncoimmunology.* 2016 May 11;5(5):e1093722. doi: 10.1080/2162402X.2015.1093722. PMID: 27467926.
22. Fabbi M., Carbotti G., Ferrini S. Context-dependent role of IL-18 in cancer biology and counter-regulation by IL-18BP. *Journal of Leukocyte Biology.* 2015;97:665-675. doi:10.1189/jlb.5RU0714-360RR.
23. Yoshimura T. The chemokine MCP-1 (CCL2) in the host interaction with cancer: a foe or ally? *Cell Mol Immunol.* 2018 Apr;15(4):335-345. doi: 10.1038/cmi.2017.135. Epub 2018 Jan 29. PMID: 29375123; PMCID: PMC6052833.

Сведения об авторах

Карпук Наталья Анатольевна – к.м.н., доцент, доцент кафедры общей и ортопедической стоматологии с курсом ФПК и ПК Витебского государственного ордена Дружбы народов медицинского университета, Витебск, Беларусь. E-mail: ms.karpuk@mail.ru.
Ищенко Оксана Владимировна – д.м.н., профессор, зав. кафедрой клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК Витебского государственного ордена Дружбы народов медицинского университета, Витебск, Беларусь. E-mail: all-vgnmu@mail.ru.

Поступила 3.03.2025.