

DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.3.2022.54-64>
УДК: 616.33-006.6006-085



Гематологічні та імунні порушення у хворих на колоректальний рак з метастазами у печінку після проведення радіочастотної абляції

Кузьменко О.В., ORCID: 0000-0002-5246-4371, e-mail: evkyzmenko@ukr.net
Сорочан П.П., ORCID: 0000-0001-7057-6724, e-mail: pavso@gmail.com
Балака С.М., ORCID: 0000-0002-9284-5697, e-mail: balaka.svjat@gmail.com

Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», Харків, Україна

Hematological and immune disorders in colorectal cancer patients with liver metastases after radiofrequency ablation

Kuzmenko O.V., ORCID: 0000-0002-5246-4371, e-mail: evkyzmenko@ukr.net
Sorochan P.P., ORCID: 0000-0001-7057-6724, e-mail: pavso@gmail.com
Balaka S.M., ORCID: 0000-0002-9284-5697, e-mail: balaka.svjat@gmail.com

State of Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, Ukraine

Ключові слова:

радіочастотна абляція, колоректальний рак, субпопуляції імуннокомпетентних клітин, онкохворі.

Для кореспонденції:

Кузьменко Олена Вікторівна
Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»;
вул. Пушкінська, буд. 82, м. Харків, Україна, 61024;
e-mail: evkyzmenko@ukr.net

© Кузьменко О.В., Сорочан П.П., Балака С.М., 2022

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Колоректальний рак (КР) – одне з найбільш частих злоякісних новоутворень у світі. Він займає третє місце в структурі онкологічної захворюваності і друге – в структурі смертності. Печінка є найчастішим місцем метастатичного поширення КР, і від 14 до 18% пацієнтів мають метастази в печінку під час встановлення діагнозу. Радіочастотна абляція (РЧА) на сьогоднішній день є найбільш перспективним методом лікування метастатичних уражень.

Мета роботи – вивчити кількісні зміни гематоімунологічних показників та їх вплив на протипухлинну реактивність у хворих на колоректальний рак після РЧА метастазів у печінку.

Матеріали та методи. Клінічно-лабораторне обстеження проведено 12 хворим на колоректальний рак із метастазами у печінку, переважали пацієнти старше 60 років. У всіх хворих гістологічно визначалася аденокарцинома, при цьому у більшості – помірного ступеня злоякісності (G2). Дослідження проведено на трьох етапах: I – за добу до проведення радіочастотної абляції, II – на третю добу після РЧА, III – на 14-ту добу після РЧА метастазів у печінку.

Результати та їх обговорення. Встановлено імунні та гематологічні індикатори розвитку запальної відповіді після проведення РЧА хворим на колоректальний рак з метастазами у печінку. На третю добу (II етап) після РЧА відмічено суттєве зростання загальної кількості лейкоцитів, відношення нейтрофілів до лімфоцитів, порушення балансу CD4+ та CD8+-лімфоцитів, зниження кількості NK- та NKT-клітин, зростання відсотка CD3+HLA-Dr-, CD4+PD1+, CD8+PD1+-лімфоцитів. На 14-ту добу (III етап) більшість показників наближалась до визначених до лікування за винятком зниженої кількості NK- та NKT-клітин і підвищення рівня тромбоцитів.

Висновки. Визначено низку гематологічних змін на третю добу після РЧА, пов'язаних із запальною реакцією: збільшення загальної кількості лейкоцитів, зростання співвідношення нейтрофіли/лімфоцити з 1,72 до 4,12, суттєве зменшення відносної та абсолютної кількості еозинофілів. Але на 14-ту добу, після стихання запальної реакції, спостерігали нормалізацію більшості досліджуваних показників.

Встановлено порушення субпопуляційного складу лімфоцитів у хворих з метастазами КР в печінку на третю добу після РЧА. Посилювались такі, що мали місце ще до втручання (низька кількість CD8+-лімфоцитів та NK-клітин) та виникали додаткові (збільшення співвідношення CD4+/CD8+, зростання відсотка CD3+-клітин HLA-Dr+, CD4+- та CD8+-лімфоцитів PD1+ (CD279+), зменшення кількості NKT-клітин). На 14-ту добу картина наближалася до початкової за винятком кількості NK- та NKT-клітин.

Вважаємо, що своєчасна корекція запальної імуносупресії в ранні строки після РЧА може скоротити період вразливості до рецидиву КР, а у віддаленому періоді потенціювати позитивний вплив РЧА на протипухлинну реактивність.

Для цитування:

Кузьменко О.В., Сорочан П.П., Балака С.М. Гематологічні та імунні порушення у хворих на колоректальний рак з метастазами у печінку після проведення радіочастотної абляції. *Український радіологічний та онкологічний журнал*. 2022. Т. 30. № 3. С. 54–64. DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.3.2022.54-64>

Key words:

radiofrequency ablation, colorectal cancer, subpopulations of immunocompetent cells, cancer patients.

For correspondence:

Kuzmenko Olena Viktorivna

State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»;

82, Pushkinska Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;

e-mail: evkyzmenko@ukr.net

© *Kuzmenko O.V., Sorochan P.P., Balaka S.M., 2022*

ABSTRACT

Background. Colorectal cancer (CRC) is one of the most common malignant neoplasms in the world. It ranks third in the structure of oncological morbidity and second in the structure of mortality. The liver is the most common site of metastatic spread of CR and 14 to 18% of patients have liver metastases at diagnosis. Radiofrequency ablation is currently the most promising method of treating metastatic lesions.

Purpose – to study quantitative changes in hematoimmunological indicators and their influence on antitumor reactivity in patients with colorectal cancer after RFA of liver metastases.

Materials and Methods. Clinical and laboratory examination was carried out in 12 patients with colorectal cancer with metastases in the liver, the majority of patients were over 60 years old. Adenocarcinoma was histologically determined in all patients, and most of them had a moderate degree of malignancy (G2). The study was carried out in three stages: I – one day before radiofrequency ablation (RFA), II – 3 days after RFA, III – 14 days after RFA of liver metastases.

Results. Immune and hematological indicators of the development of the inflammatory response after RFA in patients with colorectal cancer with liver metastases were established. On the 3rd day (II stage) after RFA, a significant increase in the total number of leukocytes, the ratio of neutrophils to lymphocytes, the number of eosinophils, a violation of the balance of CD4+ and CD8+ lymphocytes, a decrease in the number of NK- and NKT-cells, an increase in the percentage of CD3+ HLA-Dr -, CD4 +PD1+, CD8+PD1+ lymphocytes. On the 14th day (stage III), most of the parameters were close to those determined before the treatment, except for the reduced number of NK and NKT cells and the increase in the level of platelets.

Conclusions. A number of hematological changes on the 3rd day after RFA related to the inflammatory reaction were identified: an increase in the total number of leukocytes, an increase in the ratio of neutrophils/lymphocytes from 1.72 to 4.12, a significant decrease in the relative and absolute number of eosinophils. But on the 14th day, after the inflammatory reaction subsided, the normalization of most of the studied indicators was observed.

A violation of the subpopulation composition of lymphocytes was established in patients with CR metastases in the liver, on the 3rd day after RFA. Those that had taken place even before the intervention (low number of CD8+ lymphocytes and NK cells) and additional ones appeared (increased CD4+/CD8+ ratio, increased percentage of CD3+ cells HLA-Dr+, CD4+ and CD8+ lymphocytes PD1+ (CD279+), decrease in the number of NKT cells). On the 14th day, the picture approached the initial one, with the exception of the number of NK and NKT cells.

We believe that timely correction of inflammatory immunosuppression in the early days after RFA can shorten the period of vulnerability to recurrence of CR, and in the long term potentiate the positive effect of RFA on antitumor reactivity.

For citation:

Kuzmenko OV, Sorochan PP, Balaka SM. Hematological and immune disorders in colorectal cancer patients with liver metastases after radiofrequency ablation. *Ukrainian journal of radiology and oncology*. 2022;30(3):54–64. DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.3.2022.54-64>

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами

Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України» «Обґрунтування вибору резекційного або абляційного лікування метастазів колоректального раку в печінку з урахуванням предикторів системного запалення», номер державної реєстрації 0120U103301, прикладна, термін виконання 2021–2023 рр., керівники – завідувач лабораторії радіаційної імунології, кандидат медичних наук П.П. Сорочан, виконуючий обов'язки завідувача кабінету інтервенційної онкології, кандидат медичних наук С.М. Балака.

Relationship with academic programs, plans and themes

The article is a fragment of the planned research work of the State of Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» «Justification of the choice of resection or ablation treatment of colorectal cancer metastases in the liver, taking into account predictors of systemic inflammation», state registration number 0120U103301, applied, due date 2021–2023, leaders – head laboratory of radiation immunology, Candidate of Medical Sciences P.P. Sorochan, acting chief office of interventional oncology, Candidate of Medical Sciences S.M. Balaka.

ВСТУП

Колоректальний рак (КР) – одне з найбільш частих злоякісних новоутворень у світі. Він займає третє місце в структурі онкологічної захворюваності і друге – в структурі смертності. У 2020 році було зареєстровано понад 1,9 мільйона нових випадків захворювання на КР і 935 000 смертей [1]. Печінка є найчастішим місцем метастатичного поширення КР, і від 14 до 18% пацієнтів мають метастази в печінку під час встановлення діагнозу [2]. Радіочастотна абляція (РЧА) на сьогоднішній день є найбільш перспективним методом лікування метастатичних уражень. При цьому РЧА прийнято вважати відносно безпечним методом із рідкими ускладненнями і передбачуваними позитивними ефектами.

Менш вивченими є гематологічні та імунні порушення при радіочастотній абляції метастатичних уражень печінки при КР.

Дані щодо розвитку запальної відповіді організму при різних способах видалення метастатичних уражень печінки при КР, зокрема таких як радіочастотна абляція, є обмеженими. Показано, що у деяких пацієнтів РЧА приводить до появи пухлинспецифічних антитіл, антиген-специфічних CD4+ та CD8+ Т-клітин через кілька тижнів чи місяців після абляції [3, 4]. Є свідчення щодо зростання клітин з протипухлинною активністю після РЧА. Відсоток NK-клітин у периферичній крові кроликів у групах лікування РЧА був значно вищим порівняно з контрольними групами. Рівні ІНФ- γ та ФНП- α у NK-клітинах також були суттєво підвищені після РЧА-індукованої теплової коагуляції. РЧА посилювала також експресію NKG2D рецептора активації NK-клітин та протипухлинну цитотоксичність NK-клітин щодо клітин раку печінки [5, 6]. У пацієнтів, які перенесли РЧА з приводу гепатоцелюлярної карциноми, відзначали зростання частки і абсолютної кількості NK-клітин, які мали збільшену експресію рецепторів активації та зменшену експресію пригнічуючих рецепторів. Автори також відмічали підвищену функціональну активність цих клітин [7]. Отже РЧА терапія стимулює вроджений протипухлинний імунітет шляхом безпосереднього посилення цитотоксичності клітин природних кілерів. Водночас дані щодо характеру імунної відповіді організму після РЧА не є однозначними, що, якоюсь мірою, може бути пов'язано як зі строком обстеження хворих, так і з об'ємом виконаної процедури. Так, у хворих на недрібноклітинний рак легень через три місяці після РЧА спостерігали збільшення супресорних клітин мієлоїдного походження та регуляторних Т-клітин [8]. Зниження NK-клітин відмічено у хворих на нирково-клітинний рак, обстежених на 2, 4 та 6 тижні після РЧА [9]. Кількість CD8+ Т-клітин значно зменшилась у хворих на гепатоцелюлярну карциному, яким проводили РЧА первинної пухлини [10]. У пацієнтів з печінковими метастазами КР визначили зниження CD4+ Т-клітин через два дні після РЧА.

Мета роботи – вивчити кількісні зміни гематоімунологічних показників та їх вплив на протипухлинну реактивність у хворим на колоректальний рак після РЧА метастазів у печінку.

INTRODUCTION

Colorectal cancer (CRC) is one of the most common malignant neoplasms in the world. It ranks third in the structure of oncological morbidity and second in the structure of mortality. In 2020, more than 1.9 million new cases of CR and 935,000 deaths were reported [1]. The liver is the most common site of metastatic spread of CR, and 14 to 18% of patients have liver metastases at diagnosis [2]. Radiofrequency ablation (RFA) is currently the most promising method of treating metastatic lesions. At the same time, RFA is considered a relatively safe method with rare complications and predictable positive effects. Hematological and immune disorders during radiofrequency ablation of metastatic liver lesions in CR are less studied.

Data on the development of the body's inflammatory response during various methods of removing metastatic liver lesions in CR, such as radiofrequency ablation, are limited. It has been shown that in some patients RFA leads to the appearance of tumor-specific antibodies, antigen-specific CD4+ and CD8+ T-cells several weeks or months after ablation [3, 4]. There is also evidence of a decrease in the levels of regulatory T cells after RFA. Suppression of these immunosuppressive cells can reduce tolerance to malignant cells and lead to a more pronounced antitumor response [5]. There is evidence for the growth of cells with antitumor activity after RFA. The percentage of NK cells in the peripheral blood of rabbits in the RFA treatment groups was significantly higher compared to the control groups. The levels of INF- γ and TNF- α in NK cells were also significantly increased after RFA-induced thermal coagulation. RF also enhanced the expression of the NKG2D receptor for NK cell activation and the antitumor cytotoxicity of NK cells against liver cancer cells [6]. In patients who underwent RFA for hepatocellular carcinoma, an increase in the proportion and absolute number of NK cells with increased expression of activating receptors and decreased expression of inhibitory receptors was noted. The authors also noted the increased functional activity of these cells [7]. Therefore, RFA therapy stimulates innate antitumor immunity by directly increasing the cytotoxicity of natural killer cells. At the same time, the data on the nature of the body's immune response after RFA are not unambiguous, which, to some extent, may be related to both the period of examination of patients and the volume of the performed procedure. Thus, in patients with non-small cell lung cancer, an increase in suppressor cells of myeloid origin and regulatory T cells was observed 3 months after RFA [8]. A decrease in NK cells was noted in patients with renal cell carcinoma examined 2, 4, and 6 weeks after RFA [9]. The number of CD8+ T-cells significantly decreased in patients with hepatocellular carcinoma who underwent RFA of the primary tumor [10]. In patients with liver metastases of CR, a decrease in CD4+ T-cells was determined 2 days after RFA.

Purpose – to study quantitative changes in hematoimmunological indicators and their influence on antitumor reactivity in patients with colorectal cancer after RFA of liver metastases.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

MATERIALS AND METHODS

Клінічно-лабораторне обстеження проведено 12 хворим на колоректальний рак із метастазами у печінку (9 чоловіків та 3 жінки, переважали пацієнти старше 60 років). У всіх хворих гістологічно визначалася аденокарцинома, у більшій частині – помірного ступеня злоякісності (G2).

Дослідження проведено на трьох етапах: I – за добу до проведення радіочастотної абляції (РЧА), II – на третю добу після РЧА, III – на 14-ту добу після РЧА метастазів у печінку.

Усі вимірювання виконувались у атестованих лабораторіях (лабораторія радіаційної імунології, свідоцтво про атестацію № 01-0011/2022 від 07.02.2022 р. чинне впродовж трьох років, лабораторія клінічної діагностики, свідоцтво про атестацію № 01-0012/2022 від 07.02.2022 р. чинне впродовж трьох років), та кабінеті інтервенційної онкології (санітарний паспорт № 80-2020 від 05.06.2020 р. до 05.06.2025 р.).

Дослідження проведено відповідно до етичних стандартів Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964–2008 рр.), директиви Європейського товариства 86/609 про участь людей у медико-біологічних дослідженнях, а також наказу Міністерства охорони здоров'я України № 690 від 23.09.2009 р. Усі маніпуляції та аналітична робота проводилися за умови письмової згоди досліджуваних осіб під контролем комітету з біоетики та деонтології Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України».

Критеріями включення пацієнтів у дослідження було проведення їм під епідуральною анестезією і УЗ наведенням радіочастотної абляції метастазів у печінці з коагуляцією пункційних каналів з використанням апарату CoolTipseriesE.

Критерії виключення з дослідження: інша локалізація пухлини, відсутність метастазів у печінку, вік менше 18 років, небажання пацієнта брати участь у дослідженні.

Для проведення гематологічних досліджень венозну кров збирали в антикоагулянт ЕДТА у відношенні 9:1. Аналіз проводили на автоматичному гематологічному аналізаторі RT-7600 (Китай). В основі підрахунків еритроцитів (RBC – Red Blood Cells), лейкоцитів (WBC – White Blood Cells) і тромбоцитів (PLT – Platelets) лежить кондуктометричний метод. Відсотковий вміст лімфоцитів (W-SCR – WBC-Small Cell Ratio) і нейтрофілів (W-LCR – WBC-Large Cell Ratio) обчислюється аналізатором при підрахуванні загальної кількості лейкоцитів за розміром амплітуд, які виникають при проходженні клітин через апертуру з певним діаметром. Визначення гемоглобіну проводили гемоглобінціанідним методом.

Популяційний та субпопуляційний склад лімфоцитів визначали методом проточної цитометрії (Cytomics FC500) з використанням моноклональних антитіл фірми Beckman Coulter (США). Аналізували вміст таких субпопуляцій лімфоцитів: CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD4+CD28+, CD8+CD28+, CD3-CD16+56+, CD3-CD16+56+159a+, CD3-CD16+56+335+, CD3-CD19+, CD3+CD16+56+, CD3+HLADr+-CD4+PD1+ та CD8+PD1+.

Для визначення стану гуморальної ланки імунітету проводили дослідження концентрації циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у сироватці крові за допомо-

Clinical and laboratory examination was carried out in 12 patients with colorectal cancer with metastases in the liver, of which 9 were men and 3 were women, the majority of patients were over 60 years old. Adenocarcinoma was histologically determined in all patients, and most of them had a moderate degree of malignancy (G2). The study was carried out in three stages: I – one day before radiofrequency ablation (RFA), II – 3 days after RFA, III – 14 days after RFA of liver metastases. All measurements were performed in certified laboratories (laboratories of radiation immunology, certification certificate No. 01-0011/2022 dated 02.07.2022 valid for three years, clinical diagnostics laboratories, certification certificate No. 01-0012/2022 dated 02.07.2022 valid for three years), and interventional oncology office (sanitary passport No. 80-2020 from 06/05/2020 to 06/05/2025). The study was conducted in accordance with the ethical standards of the Helsinki Declaration of the World Medical Association on the ethical principles of scientific medical research involving human subjects (1964–2008), European Society directive 86/609 on the participation of people in medical and biological research, as well as the order of the Ministry of Health of Ukraine No. 690 dated September 23, 2009. All manipulations and analytical work were carried out with the written consent of the subjects under the control of the Bioethics and Deontology Committee of the Grigoriev Institute for medical Radiology and Oncology NAMS of Ukraine.

The criteria for the inclusion of patients in the study was that they underwent, under epidural anesthesia and ultrasound guidance, radiofrequency ablation of metastases in the liver with coagulation of puncture channels using the CoolTip series E device. Exclusion criteria from the study: other localization of the tumor, absence of metastases in the liver, age less than 18 years, unwillingness of the patient to participate in the study.

For hematological studies, venous blood was collected in EDTA anticoagulant in a ratio of 9:1. The analysis was performed on an automatic hematological analyzer RT-7600 (China). The basis of counting erythrocytes (RBC – Red Blood Cells), leukocytes (WBC – White Blood Cells) and platelets (PLT – Platelets) is the conductometric method. The percentage content of lymphocytes (W-SCR – WBC-Small Cell Ratio) and neutrophils (W-LCR – WBC-Large Cell Ratio) is calculated by the analyzer when counting the total number of leukocytes by the size of the amplitudes that occur when cells pass through an aperture with a certain diameter. Hemoglobin was determined by the hemoglobin cyanide method.

Population and subpopulation composition of lymphocytes was determined by flow cytometry (Cytomics FC500) using monoclonal antibodies from Beckman Coulter (USA). The following subpopulations of lymphocytes were analyzed: CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD4+CD28+, CD8+CD28+, CD3-CD16+56+, CD3-CD16+56+159a+, CD3-CD16+56+335+, CD3 +CD16+56+, CD3-CD19+, CD3+HLADr+-CD4+PD1+ and CD8+PD1+. To determine the state of the humoral link of immunity, the concentration of circulating immune complexes (CIC) in blood serum was studied using a set of reagents («CIC-HEMA»), immunoglobulins of classes G, A, M, by the method using sets of monospecific sera against human immunoglobulins (NPO «Microgen») [11]. When studying the phagocytic activity of neutrophils in the peripheral blood

гою набору реагентів («ЦІК-ХЕМА»), імуноглобулінів класів G, A, M, методом із використанням наборів моноспецифічних сироваток проти імуноглобулінів людини (НПО «Мікроген») [11]. При дослідженні фагоцитарної активності нейтрофілів периферичної крові хворих використовували метод завершеного фагоцитозу [12] у прямому візуальному тесті із застосуванням стафілокока (штам С-52). Оцінювали такі показники фагоцитарної активності: кількість фагоцитуючих нейтрофілів (ФН), фагоцитарне число (ФЧ), бактерицидну активність нейтрофілів (БАН), індекс завершеності фагоцитозу (ІЗФ).

Отримані результати оброблялися за допомогою пакета STATISTICA 6.0. Для чисельного представлення вибірок використовувалися показники медіани, а також інтерквартильного розмаху як характеристики розсіяння. Для перевірки достовірності відмінностей пов'язаних вибірок використовували критерій Вілкоксона, непов'язаних вибірок – критерій Манна–Уїтні. В ході аналізу результатів вірогідними приймалися варіанти з $p < 0,05$.

of patients, the method of complete phagocytosis [12] was used in a direct visual test using staphylococcus (strain C-52). The following indicators of phagocytic activity were evaluated: the number of phagocytic neutrophils (FN), phagocytic number (FC), bactericidal activity of neutrophils (BAN), index of completion of phagocytosis (IPF).

The obtained results were processed using the STATISTICA 6.0 package. For the numerical representation of the samples, the median and interquartile range indicators were used as dispersion characteristics. The Wilcoxon test was used to check the reliability of differences between related samples, and the Mann–Whitney test was used for unrelated samples. When analyzing the results, options with $p < 0.05$ were accepted as probable.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

RESULTS AND DISCUSSION

У хворих на КР на I етапі дослідження гематологічні показники зберігались у межах норми (табл. 1). Низький рівень еозинофілів виявлено у частки хворих на колоректальний рак на I етапі дослідження. На II етапі дослідження у хворих виявлено ознаки системної запальної відповіді. Відмічене значне збільшення загальної кількості лейкоцитів у крові, абсолютної та відносної кількості нейтрофілів та зниження відносної кількості лімфоцитів. Співвідношення Н/Л збільшилось з 1,72 до 4,12.

In patients with CKD, hematological indicators remained within the normal range at the first stage of the study (Table 1). A low level of eosinophils was found in a proportion of patients with colorectal cancer at the 1st stage of the study. At the II stage of the study, signs of a systemic inflammatory response were found in the patients. A significant increase in the total number of leukocytes in the blood, the absolute and relative number of neutrophils and a decrease in the relative number of lymphocytes were noted. The N/L ratio increased from 1.72 to 4.12.

Таблиця 1. Гематологічні показники у хворих на КР на етапах дослідження
Table 1. Hematological indicators in patients with CR at the stages of the study

Показник / Indicator	Медіана (верхній кuartиль – нижній кuartиль) Median (upperquartile – lowerquartile)		
	I етап / I stage	II етап / II stage	III етап / III stage
Лейкоцити, $10^9/л$ / Leukocytes, $10^9/l$	5,6 (4,5–6,1)	12,7 (7,5–15,4)*	7,5 (4,6–9,4)
Лімфоцити, % / Lymphocytes, %	31,4 (24,4–40,2)	17,4 (9,6–28,4)	26,9 (23,2–37,4)
Лімфоцити, $10^9/л$ / Lymphocytes, $10^9/l$	1,64 (1,39–2,11)	2,13 (1,47–2,20)	2,18 (1,24–2,82)
Нейтрофіли, % / Neutrophils, %	53,8 (47,1–62,1)	71,5 (63,6–83,6)*	59,8 (53,1–66,8)
Нейтрофіли, $10^9/л$ / Neutrophils, $10^9/l$	2,76 (2,11–4,34)	9,06 (4,63–12,84)*	4,01 (2,76–6,27)
Еритроцити, $10^{12}/л$ / Erythrocytes, $10^{12}/l$	5,06 (4,60–5,60)	4,26 (4,11–5,20)	4,49 (3,34–5,20)
Гемоглобін, г/л / Hemoglobin, g/l	134,5 (112,5–152,0)	127,0 (93,0–139,0)	130,0 (106,0–141,0)
Тромбоцити, $10^9/л$ / Platelets, $10^9/l$	233 (205–285)	212 (185–229)	343 (240–346) ^z
Еозинофіли, % / Eosinophils, %	3,63 (1,45–5,80)	0,70 (0,20–0,80)*	2,10 (1,10–6,50) ^z
Еозинофіли, $10^9/л$ / Eosinophils, $10^9/l$	0,24 (0,07–0,40)	0,06 (0,03–0,09)	0,20 (0,08–0,30)
Моноцити, % / Monocytes, %	8,0 (6,3–9,9)	9,1 (6,4–10,0)	7,5 (5,9–8,0)
Моноцити, $10^9/л$ / Monocytes, $10^9/l$	0,44 (0,41–0,49)	0,99 (0,68–1,26)*	0,60 (0,27–0,70)

Примітка: *відмінності показників на I та II етапах вірогідні;
 *відмінності показників на I та III етапах вірогідні;
^zвідмінності показників на II та III етапах вірогідні.

Notes: *differences in indicators at the I and II stages are probable.;
 *differences in indicators at the 1st and 3rd stages are probable;
^zdifferences in indicators at the II and III stages are probable.

На II етапі дослідження відмічене суттєве зниження як відносної, так і абсолютної кількості еозинофілів. Кількість тромбоцитів та відносна кількість моноцитів не змінювались на II етапі дослідження, тоді як абсолютна кількість моноцитів збільшилась майже вдвічі.

Аналіз гематологічних показників на III етапі показав нормалізацію більшості досліджуваних показників. У хворих спостерігали підвищення рівня тромбоцитів.

Отриманні нами дані співставляювані з даними літератури. Важливою невивченою проблемою, пов'язаною з РЧА, є посилення системної запальної відповіді. Однією з причин розвитку еозінопенії після проведення РЧА може бути початок розвитку запального процесу. В експериментах *in vitro* на клітинах раку товстої кишки людини Colo-205 показана здатність еозинофілів викликати пряме знищення пухлинних клітин шляхом адгезії та вивільнення цитотоксичних гранул [13–15]. При клінічних ракових захворюваннях наявність еозинофілів в пухлинних сайтах, або в периферичній крові, є сприятливим прогностичним фактором для більшості видів раку, включаючи колоректальний рак, хоча є докази і протуморогенної ролі еозинофілів [16].

За даними L. Harbaum et al. [17] у хворих на колоректальний рак перитуморальні еозинофіли є незалежним предиктором сприятливої виживаності без прогресування та раково-специфічної виживаності.

У дослідженні A.E. Prizmen et al. [18] показано зв'язок високого рівня еозинофілів стромы пухлини із зниженням ризику смерті від усіх причин та раковоспецифічної виживаності при колоректальному раку. Повідомляють також, що більша кількість еозинофілів периферичної крові пов'язана зі зниженням ризику смерті від колоректального раку, особливо у курців та чоловіків [19].

У низці досліджень показано, що збільшення передопераційної абсолютної кількості моноцитів може передбачати несприятливу виживаність у пацієнтів з різними карциномами, такими як аденокарцинома легені, гепатоцелюлярна карцинома, рак передміхурової залози та рак стравоходу [20]. Вважають, що ця зміна може відображати системну запальну протипухлинну реакцію після терапії і може бути більш значним параметром для оцінки виживаності після терапії. Так, у хворих на плоскоклітинний рак стравоходу післяопераційна зміна кількості моноцитів є кращим предиктором виживаності, ніж передопераційна кількість моноцитів [20, 21]. Предикторна роль змін абсолютної кількості моноцитів у хворих на КР не досліджувалась.

Підвищення рівня тромбоцитів може бути пов'язано зі збільшенням рівня прозапальних цитокінів, таких як інтерлейкіни (ІЛ-1, ІЛ-6 та ІЛ-11), яке спостерігають при запальних та інфекційних процесах та злоякісних новоутвореннях [21]. Дослідження кісткового мозку у експериментальних тварин із залізодефіцитною анемією виявили експансію попередників мегакаріоцитів, збільшення плоідності мегакаріоцитів та їх прискорену диференціацію. Дефіцит заліза не змінював продукцію таких гемопоетичних факторів росту, як тромбопоетин та цитокіни [22]. Корекція запалення, яке виникає після РЧА, може слугувати не тільки прискоренню фізичної та соціальної реабілітації пацієнта, але й підвищенню загальної ефективності протипухлинного лікування.

Дослідження імунних показників виявило порушення в субпопуляційному складі лімфоцитів на I етапі дослідження, зокрема, такі як наявність низької відносної та абсолютної кількості CD8+ лімфоцитів та NK-клітин у деяких хворих.

At the II stage of the study, a significant decrease in both the relative and absolute number of eosinophils was noted. The number of platelets and the relative number of monocytes did not change in the II stage of the study, while the absolute number of monocytes increased almost twice.

The analysis of hematological indicators at the III stage showed the normalization of most of the studied indicators. An increase in the level of platelets was observed in patients. The data obtained by us are comparable with the literature data. Several studies analyzed the relationship between eosinophil levels and the course of the disease. A low level of eosinophils is considered as a negative factor for tumor growth, as there are data on the antitumor effect of these cells in colorectal cancer. *In vitro* experiments on Colo-205 human colon cancer cells showed the ability of eosinophils to cause direct destruction of tumor cells by adhesion and release of cytotoxic granules [13–15]. In clinical cancer, the presence of eosinophils in tumor sites or in peripheral blood is a favorable prognostic factor for most types of cancer, including colorectal cancer, although there is evidence of the protumorigenic role of eosinophils [16]. According to L. Harbaum et al. [17] in colorectal cancer patients, peritumoral eosinophils are an independent predictor of favorable progression-free survival and cancer-specific survival.

In the study of A.E. Prizmen et al. [18] showed the association of high levels of tumor stromal eosinophils with a reduced risk of death from all causes and cancer-specific survival in colorectal cancer. It is also reported that a higher number of peripheral blood eosinophils is associated with a lower risk of death from colorectal cancer, especially in smokers and men [19].

Several studies have shown that an increase in preoperative absolute monocyte count can predict unfavorable survival in patients with various carcinomas, such as lung adenocarcinoma, hepatocellular carcinoma, prostate cancer, and esophageal cancer [20]. It is believed that this change may reflect a systemic inflammatory antitumor response after therapy and may be a significant parameter for evaluating survival after therapy. Thus, in patients with squamous cell cancer of the esophagus, the postoperative change in the number of monocytes is a better predictor of survival than the preoperative number of monocytes [20, 21]. The predictive role of changes in the absolute number of monocytes in patients with CR has not been investigated.

An increase in the level of platelets may be associated with an increase in the level of pro-inflammatory cytokines, such as interleukins (IL-1, IL-6 and IL-11), which are observed in inflammatory and infectious processes and malignant neoplasms [21]. Bone marrow studies in experimental animals with iron-deficiency anemia revealed expansion of megakaryocyte progenitors, increased megakaryocyte ploidy, and accelerated megakaryocyte differentiation. Iron deficiency did not change the production of such hematopoietic growth factors as thrombopoietin and cytokines [22].

The study of immune indicators revealed abnormalities in the subpopulation composition of lymphocytes at the 1st stage of the study, in particular, such as the presence of a low relative and absolute number of CD8+ lymphocytes and NK cells in some patients.

At the II stage of the study, the relative number of CD3+ lymphocytes did not change. At the same time, there was a trend towards an increase in the relative

На II етапі дослідження відносна кількість CD3+-лімфоцитів не змінювалась. У той же час спостерігали тенденцію до збільшення відносної кількості CD4+ -клітин та зменшення відносної кількості CD8+ -клітин, що відбивалося на збільшенні співвідношення CD4+/CD8+. Виявлено також зростання CD3+ -клітин, експресуючих HLA-Dr (табл. 2). HLA-DR – основна молекула головного комплексу гістосумісності класу II, яка є критичною для активації лімфоцитів та організації адаптивних імунних відповідей і розглядається у якості біомаркера запалення.

number of CD4+ cells and a decrease in the relative number of CD8+ cells, which was reflected in an increase in the CD4+/CD8+ ratio.

An increase in CD3+ cells expressing HLA-Dr was also detected (Table 2). HLA-DR is the main molecule of the major histocompatibility complex of class II, which is critical for the activation of lymphocytes and the organization of adaptive immune responses and is considered as a biomarker of inflammation.

Таблиця 2. Імунні показники у хворих на КР на етапах дослідження
Table 2. Immune parameters in CR patients at the research stages

Показник / Indicator	Медіана (верхній кuartиль – нижній кuartиль) Median (upperquartile – lowerquartile)		
	I етап / I stage	II етап / II stage	III етап / III stage
CD3+, % / CD3+, %	72,9 (71,5–74,5)	74,3 (69,5–75,0)	74,3 (73,3–75,8)
CD3+, 10 ⁹ /л / CD3+, 10 ⁹ /л	1,19 (0,99–1,57)	1,43 (1,08–1,59)	1,61 (0,91–2,14)
CD4+, % / CD4+, %	45,6 (39,6–50,2)	52,2 (42,0–53,6)	41,3 (35,1–53,0)
CD4+, 10 ⁹ /л / CD4+, 10 ⁹ /л	0,70 (0,68–0,85)	0,78 (0,73–1,09)	0,76 (0,66–1,16)
CD8+, % / CD8+, %	23,3 (16,2–31,1)	18,2 (15,0–22,6)	31,2 (16,6–33,5)
CD8+, 10 ⁹ /л / CD8+, 10 ⁹ /л	0,41 (0,22–0,66)	0,48 (0,22–0,61)	0,73 (0,21–0,88)
CD19+, % / CD19+, %	10,3 (7,3–16,0)	16,1 (12,2–20,1)	9,1 (1,3–18,9)
CD19+, 10 ⁹ /л / CD19+, 10 ⁹ /л	0,14 (0,11–0,32)	0,40 (0,21–0,47)	0,11 (0,03–0,53)
CD3–CD16+56+, % / CD3–CD16+56+, %	14,8 (11,5–17,9)	7,9 (3,8–9,9)*	3,3 (2,9–8,3)
CD3–CD16+56+, ·10 ⁹ /л / CD3–CD16+56+, ·10 ⁹ /л	0,21 (0,15–0,29)	0,13 (0,03–0,14)*	0,08 (0,07–0,17)
CD3+CD16+56+, % / CD3+CD16+56+, %	8,5 (4,6–14,9)	2,2 (1,7–7,3)	1,5 (1,4–6,5)
CD3+CD16+56+, ·10 ⁹ /л / CD3+CD16+56+, ·10 ⁹ /л	0,31 (0,09–0,79)	0,05 (0,02–0,27)	0,03 (0,01–0,06)
HLA–DR+, % / HLA–DR+, %	3,1 (2,1–3,7)	4,6 (3,0–5,6)	3,5 (2,2–5,2)
HLA–DR+, 10 ⁹ /л / HLA–DR+, 10 ⁹ /л	0,046 (0,037–0,058)	0,054 (0,050–0,130)	0,060 (0,042–0,110)
CD4/CD8 / CD4/CD8	2,0 (1,1–2,0)	2,8 (1,9–3,7)	1,2 (1,1–2,2)
CD4+CD279+, % / CD4+CD279+, %	10,4 (8,3–11,8)	13,2 (10,9–14,0)	9,8 (5,7–14,7)
CD4+CD279, 10 ⁹ /л / CD4+CD279, 10 ⁹ /л	0,16 (0,15–0,19)	0,20 (0,19–0,28)	0,16 (0,12–0,32)
CD8+CD279+, % / CD8+CD279+, %	4,3 (3,2–6,8)	5,2 (3,4–6,9)	4,5 (1,4–8,3)
CD8+CD279, ·10 ⁹ /л / CD8+CD279, 10 ⁹ /л	0,059 (0,054–0,115)	0,073 (0,040–0,180)	0,072 (0,040–0,250)
CD4+CD28+, % / CD4+CD28+, %	44,2 (36,5–49,1)	50,9 (40,2–52,3)	40,3 (31,7–52,9)
CD4+CD28+, 10 ⁹ /л / CD4+CD28+, 10 ⁹ /л	0,64 (0,33–0,68)	0,76 (0,66–1,07)	0,68 (0,65–1,14)
CD8+CD28+, % / CD8+CD28+, %	0,97 (0,63–1,75)	0,85 (0,66–1,55)	0,69 (0,50–2,30)
CD8+CD28+, 10 ⁹ /л / CD8+CD28+, 10 ⁹ /л	0,015 (0,011–0,028)	0,012 (0,010–0,049)	0,014 (0,009–0,050)
CD3–CD16+56+335+, % / CD3–CD16+56+335+, %	0,77 (0,44–1,7)	0,54 (0,22–0,80)	0,68 (0,30–1,10)
CD3–CD16+56+335+, ·10 ⁹ /л / CD3–CD16+56+335+, ·10 ⁹ /л	0,011 (0,007–0,029)	0,008 (0,002–0,013)	0,010 (0,08–0,014)
CD3–CD16+56+159a+, % / CD3–CD16+56+159a+, %	3,6 (2,7–4,6)	1,7 (1,2–2,3)*	3,5 (0,6–4,6)
CD3–CD16+56+159a+, ·10 ⁹ /л / CD3–CD16+56+159a+, ·10 ⁹ /л	0,066 (0,044–0,085)	0,042 (0,014–0,35)*	0,057 (0,013–0,099)
ЦІК, ум. од. / Circulatingimmunecomplexes, um. unit	72,0 (54,5–123,0)	66,0 (61,5–110,5)	47,0 (47,0–86,0)
Ig G, г/л / Ig G, г/л	13,1 (10,3–17,2)	13,1 (11,0–14,7)	11,9 (7,4–16,7)
Ig A, г/л / Ig A, г/л	2,41 (1,94–3,01)	2,44 (2,12–2,69)	2,36 (2,12–2,88)
Ig M, г/л / Ig M, г/л	0,92 (0,75–1,06)	0,97 (0,84–1,02)	0,87 (0,75–1,11)
ФН, % / Phagocytizing neutrophils, %	90 (90–91)	91 (90–92)	90 (90–94)
ФЧ, ум. од. / Phagocyticnumber, ум. од.	3,74 (3,61–3,85)	3,74 (3,67–3,96)	3,71 (3,65–3,79)
БАН, % / Bactericidalactivityofneutrophils, %	38,9 (38,1–39,2)	38,5 (37,9–39,0)	38,7 (38,6–39,3)
ІЗФ, ум. од. / Indexofcompletionofphagocytosis, um. unit	0,89 (0,86–0,93)	0,90 (0,86–0,93)	0,91 (0,89–0,92)

Примітка: *відмінності показників на I та II етапах вірогідні;
 †відмінності показників на I та III етапах вірогідні;
 ‡відмінності показників на II та III етапах вірогідні.

Notes: *differencesinindicatorson the 1st and 2nd stagesarelikely;
 †differencesinindicatorson the 1st and 3rd stages are probable;
 ‡differencesinindicatorson the 2nd and 3rd stagesareprobable.

Зміни кількості CD4+ та CD8+-клітин, експресуючих CD28, мембранний костимулюючий білок, необхідний для активації Т-клітин, були співставлюваними зі змінами кількості CD4+ та CD8+-лімфоцитів на II етапі. Відносна та абсолютна кількість CD4+CD28+-лімфоцитів зростала, тоді як відносна та абсолютна кількість CD8+CD28+-лімфоцитів зменшувалась. При цьому відсоток CD28+-експресуючих клітин у пулі CD4+ та CD8+-клітин на II етапі дослідження майже не змінювався. Медіана відсотка CD4+CD28+-лімфоцитів складала 96,9% CD4+-лімфоцитів на I етапі та 97,5% – на II етапі, медіана відсотка CD8+CD28+-клітин становила 5,7% на I етапі та 5,2% – на II етапі дослідження відповідно.

У той же час на II етапі відмічене зростання як CD4+-, так і CD8+-лімфоцитів, експресуючих супресорну молекулу PD1 (CD279+). Медіана відсотка PD1-експресуючих клітин серед CD4+-лімфоцитів на I етапі складала 20,8%, а на II етапі цей відсоток виріс до 26,1%. Медіана відсотка CD8+PD1+-клітин у пулі CD8+-клітин збільшилась з 26,3 до 31,4%.

На II етапі дослідження відмічене суттєве зменшення відносної та абсолютної кількості NK- та NKT-клітин. Відносна кількість NK-клітин зменшилась майже удвічі у цей термін дослідження.

Паралельно зі зниженням NK-клітин відбувалось зниження NK клітин, що експресують активуючі (CD335+ (NKp46)) та інгібуючі рецептори (CD159a+ (NKG2A)). При цьому вираженість зниження експресії варіювала у широкому діапазоні. Відносна та абсолютна кількість CD19+-лімфоцитів збільшувалась на II етапі дослідження.

Аналіз рівня імуноглобулінів та фагоцитарної активності нейтрофілів не виявив змін цих показників на II етапі дослідження. Дослідження імунних показників на II етапі виявило усунення дисбалансу CD4+ та CD8+-клітин. Медіана відносної кількості CD8+-клітин була навіть вищою за визначену до проведення РЧА (31,2 проти 23,3%, відповідно). Відносні кількості CD4+ та CD8+-клітин, експресуючих CD28+ та PD1+ наближались до визначених до проведення РЧА. Відносна та абсолютна кількість CD19+-лімфоцитів також були наближені до вихідних рівнів у цей строк дослідження. У той же час на II етапі дослідження залишалась низькою відносна та абсолютна кількість NK-та NKT-клітин.

Згідно з літературними даними, викликане абляцією зростання рівня глюкокортикоїдів, може бути однією із причин збільшення експресії PD1. Нещодавно було показано стимуляцію глюкокортикоїдами експресії PD1 на Т-клітинах [23]. Прозапальні цитокіни, рівні яких суттєво зростають у ранні строки після РЧА, також справляють стимулюючий ефект на експресію PD1 [24]. Повідомляють, що рівні експресії активуючих NKp30 та NKp46 рецепторів корелюють з літичною активністю NK-клітин щодо клітин колоректального раку. Є дані, що експресія NKp46 корелювала з безрецидивною виживаністю хворих на КР з максимальним періодом спостереження 71 міс. [27–29].

Як відомо, NK-клітини відіграють вирішальну роль у протипухлинному імунному захисті. Вони проявляють цитолітичну активність шляхом прямого впливу на пухлинні клітини та вивільнення цитотоксичних гранул, що містять гранзими (A, B, H, K і M) та перфорини або шляхом секреції різних цитокінів, таких як ІНФ- γ та ФНП- α . Є повідомлення щодо прогностичної цінності цих клітин при КР.

Changes in the number of CD4+ and CD8+ cells expressing CD28, a membrane costimulatory protein required for T-cell activation, were comparable to changes in the number of CD4+ and CD8+ lymphocytes in stage II. The relative and absolute numbers of CD4+CD28+ lymphocytes increased, while the relative and absolute numbers of CD8+CD28+ lymphocytes decreased. At the same time, the percentage of CD28+-expressing cells in the pool of CD4+ and CD8+ cells at the II stage of the study almost did not change.

The median percentage of CD4+CD28+ lymphocytes was 96.9% of CD4+ lymphocytes at stage I and 97.5% at stage II, the median percentage of CD8+CD28+ cells was 5.7% at stage I and 5.2% at stage II research respectively.

At the same time, at the II stage, an increase in both CD4+ and CD8+ lymphocytes expressing the suppressor molecule PD1 (CD279+) was noted. The median percentage of PD1-expressing cells among CD4+ lymphocytes at stage I was 20.8%, and at stage II this percentage increased to 26.1%. The median percentage of CD8+PD1+ cells in the pool of CD8+ cells increased from 26.3% to 31.4%.

At the II stage of the study, a significant decrease in the relative and absolute number of NK and NKT cells was noted. The relative number of NK cells decreased by almost 2 times during this study period.

In parallel with the decrease in NK cells, there was a decrease in NK cells expressing activating (CD335+ (NKp46)) and inhibitory receptors (CD 159a+ (NKG2A)). At the same time, the severity of the decrease in expression varied in a wide range. The relative and absolute number of CD19+ lymphocytes increased at the II stage of the study.

The analysis of the level of immunoglobulins and the phagocytic activity of neutrophils did not reveal changes in these indicators at the II stage of the study. The study of immune indicators at the II stage revealed the elimination of the imbalance of CD4+ and CD8+ cells. The median relative number of CD8+ cells was even higher than that determined before RFA (31.2% vs. 23.3%, respectively). The relative numbers of CD4+ and CD8+ cells expressing CD28+ and PD1+ were close to those determined before RFA. Relative and absolute CD19+ lymphocyte counts were also close to baseline levels during this study period.

At the same time, the relative and absolute number of NK and NKT cells remained low at the II stage of the study.

According to literature data, ablation-induced increase in glucocorticoid levels may be one of the reasons for increased PD1 expression. Glucocorticoids have recently been shown to stimulate PD1 expression on T cells [23]. Proinflammatory cytokines, the levels of which significantly increase in the early days after RFA, also have a stimulating effect on the expression of PD1 [24]. Expression levels of the activating NKp30 and NKp46 receptors have been reported to correlate with the lytic activity of NK cells against colorectal cancer cells. There are data showing that NKp46 expression correlated with relapse-free survival in patients with CR with a maximum follow-up period of 71 months. [27–29]. As is known, NK cells play a crucial role in antitumor immune defense. They show cytolytic activity by directly affecting tumor cells and releasing cytotoxic granules, which contain granzymes (A, B, H, K and M) and perforins or by the secretion of various cytokines, such as IF- γ and TNF- α . There are reports on the prognostic value of these cells in CR.

За даними Y.P. Tangetal. [25], NK-клітини крові були незалежним предиктором виживання у пацієнтів з КР, а сукупна кількість NK-клітин та В-лімфоцитів збільшувала прогностичну значущість. Дослідження, проведене у пацієнтів, які перенесли операцію з приводу КР, показало, що передопераційна кількість NK-клітин була прогностичним фактором рецидиву раку [26].

Отже, у ранні строки після проведення радіочастотної абляції відбуваються системні імунні порушення, які можуть на деякий час сприяти збільшенню ризику метастазування. Обмеження викликані РЧА запальної імуносупресії безпосередньо після втручання може бути стратегією зменшення періоду вразливості до рецидиву КР, а у віддалених термінах потенціувати позитивний вплив РЧА на протипухлинну реактивність.

According to Y. R. Tang et al. [25], blood NK cells were an independent predictor of survival in patients with CR, and the combined number of NK cells and B lymphocytes increased prognostic significance. An observational study conducted in patients who underwent surgery for CR showed that the preoperative number of NK cells was a prognostic factor for cancer recurrence [26].

Therefore, in the early days after radiofrequency ablation, systemic immune disorders occur, which can contribute to an increase in the risk of metastasis. Limitation of RFA-induced immunosuppression may be a strategy to reduce vulnerability to cancer recurrence of this intervention.

ВИСНОВКИ

Визначено низку гематологічних змін на третю добу після РЧА, пов'язаних із запальною реакцією: збільшення загальної кількості лейкоцитів, зростання співвідношення нейтрофілів/лімфоцитів з 1,72 до 4,12, суттєве зменшення відносної та абсолютної кількості еозинофілів. Але на 14-ту добу, після стихання запальної реакції, спостерігали нормалізацію більшості досліджуваних показників.

Встановлено порушення субпопуляційного складу лімфоцитів у хворих з метастазами КР в печінку на третю добу після РЧА. Посиливались ті, які мали місце ще до втручання (низька кількість CD8+ лімфоцитів та NK-клітин) та виникали додаткові (збільшення співвідношення CD4+/CD8+, зростання відсотка CD3+-клітин HLA-Dr+, CD4+ та CD8+ лімфоцитів PD1+ (CD279+), зменшення кількості NKT-клітин). На 14-ту добу картина наближалася до початкової за винятком кількості NK- та NKT-клітин.

Вважаємо, що своєчасна корекція запальної імуносупресії в ранні строки після РЧА може скоротити період вразливості до рецидиву КР, а у віддалених термінах потенціувати позитивний вплив РЧА на протипухлинну реактивність.

CONCLUSIONS

A number of hematological changes on the 3rd day after RFA related to the inflammatory reaction were identified: an increase in the total number of leukocytes, an increase in the ratio of neutrophils/lymphocytes from 1.72 to 4.12, a significant decrease in the relative and absolute number of eosinophils. But on the 14th day, after the inflammatory reaction subsided, the normalization of most of the studied indicators was observed.

A violation of the subpopulation composition of lymphocytes was established in patients with CR metastases in the liver, on the 3rd day after RFA. Those that had taken place even before the intervention (low number of CD8+ lymphocytes and NK cells) and additional ones appeared (increased CD4+/CD8+ ratio, increased percentage of CD3+ cells HLA-Dr+, CD4+ and CD8+ lymphocytes PD1+ (CD279+), decrease in the number of NKT cells). On the 14th day, the picture approached the initial one, with the exception of the number of NK and NKT cells.

We believe that timely correction of inflammatory immunosuppression in the early days after RFA can shorten the period of vulnerability to recurrence of CR, and in the long term potentiate the positive effect of RFA on antitumor reactivity.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L. et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. 2021. URL: <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.3322/caac.21660>
2. Федоренко З.П., Гулак Л.О., Михайлович Ю.Й. та ін. Рак в Україні, 2019–2020. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. *Бюлетень національного канцер-реєстру України*. 2021. № 22. 82 с.
3. Федоренко З.П., Колесник О.О., Гулак Л.О. та ін. Колоректальний рак в Україні: епідеміологічні та організаційні аспекти проблеми. *Практична онкологія*. 2019. Т. 2, № 2. С. 2–9.
4. Tohme S., Simmons R.L., Tsung A. Surgery for Cancer: A Trigger for Metastases. *Cancer research*. 2017. Vol. 77. P. 1548–1552.
5. Hiller J.G., Perry N.J., Pouligiannis G. et al. Perioperative events influence cancer recurrence risk after surgery. *Nature reviews. Clinical oncology*. 2018. Vol. 15, № 4. P. 205–218.
6. Kinoshita T., Goto T. Links between Inflammation and Postoperative Cancer Recurrence. *Journal of clinical medicine*. 2021. Vol. 10, № 2. 228 p. URL: <https://www.mdpi.com/2077-0383/10/2/228>
7. Margraf A., Ludwig N., Zarbock A., Rossaint J. Systemic Inflammatory Response Syndrome After Surgery: Mechanisms and Protection. *Anesthesia and analgesia*. 2020. Vol. 131, № 6. P. 1693–1707.
8. McSorley S.T., Watt D.G., Horgan P.G., McMillan D.C. Postoperative Systemic Inflammatory Response, Complication Severity, and Survival Following Surgery for Colorectal Cancer. *Annals of surgical oncology*. 2016. Vol. 23, № 9. P. 2832–2840.

REFERENCES

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. 2021. (In English). URL: <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.3322/caac.21660>
2. Fedorenko ZP, Gulak LO, Mykhailovych YuY et al. Cancer in Ukraine, 2019–2020. Morbidity, mortality, performance indicators of the oncology service. *Bulletin of the national Chancery Registry of Ukraine*. 2021;22:82. (In Ukrainian).
3. Fedorenko ZP, Kolesnik OO, Gulak LO et al. Colorectal cancer in Ukraine: epidemiological and organizational aspects of the problem. *Practical oncology*. 2019;2(2):2–9. (In Ukrainian).
4. Tohme S, Simmons RL, Tsung A. Surgery for Cancer: A Trigger for Metastases. *Cancer research*. 2017;77:1548–52. (In English).
5. Hiller JG, Perry NJ, Pouligiannis G et al. Perioperative events influence cancer recurrence risk after surgery. *Nature reviews. Clinical oncology*. 2018;15(4):205–18. (In English).
6. Kinoshita T, Goto T. Links between Inflammation and Postoperative Cancer Recurrence. *Journal of clinical medicine*. 2021;10(2):228. (In English). URL: <https://www.mdpi.com/2077-0383/10/2/228>
7. Margraf A, Ludwig N, Zarbock A, Rossaint J. Systemic Inflammatory Response Syndrome After Surgery: Mechanisms and Protection. *Anesthesia and analgesia*. 2020;131(6):1693–707. (In English).
8. McSorley ST, Watt DG, Horgan PG, McMillan DC. Postoperative Systemic Inflammatory Response, Complication Severity, and Survival Following Surgery for Colorectal Cancer. *Annals of surgical oncology*. 2016;23(9):2832–40. (In English).

9. Matsubara D., Arita T., Nakanishi M. et al. The impact of postoperative inflammation on recurrence in patients with colorectal cancer. *International journal of clinical oncology*. 2020. Vol. 25, № 4. P. 602–613.
10. Valderrama-Treviño A.I., Barrera-Mera B., Ceballos-Villalva J.C., Montalvo-Javé E.E. Hepatic Metastasis from Colorectal Cancer. *Euroasian journal of hepato-gastroenterology*. 2017. Vol. 7, № 2. P. 166–175.
11. Гамалея Н.В., Мондрус Н.А. Сравнение двух методов определения Ig G, A, M (спектрофотометрия и радиальная иммунодиффузия). *Клиническая лабораторная диагностика*. 1994. № 1. С. 6–7.
12. Кудрявицкий А.И. Оценка киллерной бактерицидности нейтрофилов периферической крови здоровых доноров и больных в прямом визуальном тесте. *Лабораторное дело*. 1985. № 1. С. 45–47.
13. Aaronson N.K., Ahmedzai S., Bergman B. et al. The European Organization for Research and Treatment of Cancer QLQ-C30: a quality-of-life instrument for use in international clinical trials in oncology. *Journal of the National Cancer Institute*. 1993. Vol. 85, № 5. P. 365–376.
14. Шпарик Я.В., Ковальчук І.В., Билинський Б.Т. Довідник онколога. *Галицька видавнича спілка*. 2002. 128 с.
15. Muñoz M., Gómez-Ramírez S., Besser M. et al. Current misconceptions in diagnosis and management of iron deficiency. *Blood transfusion*. 2017. Vol. 15, № 5. P. 422–437.
16. Gatault S., Delbeke M., Driss V. et al. IL-18 Is Involved in Eosinophil-Mediated Tumoricidal Activity against a Colon Carcinoma Cell Line by Upregulating LFA-1 and ICAM-1. *Journal of immunology*. 2015. Vol. 195, № 5. P. 2483–2492.
17. Harbaum L., Pollheimer M.J., Kornprat P. et al. Peritumoral eosinophils predict recurrence in colorectal cancer. *Modern pathology*. 2015. Vol. 28, № 3. P. 403–413.
18. Prizment A.E., Vierkant R.A., Smyrk T.C. et al. Tumor eosinophil infiltration and improved survival of colorectal cancer patients: Iowa Women's Health Study. *Modern pathology*. 2016. Vol. 29, № 5. P. 516–527.
19. Legrand F., Driss V., Delbeke M. et al. Human eosinophils exert TNF-alpha and granzyme A-mediated tumoricidal activity toward colon carcinoma cells. *Journal of immunology*. 2010. Vol. 185, № 12. P. 7443–7451.
20. Varricchi G., Galdiero M.R., Loffredo S. et al. Eosinophils: The unsung heroes in cancer? *Oncoimmunology*. 2018. Vol. 7, № 2. e1393134 p.
21. Taghizadeh N., Vonk J.M., Boezen H.M. Peripheral blood eosinophil counts and risk of colorectal cancer mortality in a large general population-based cohort study. *Journal of clinical oncology*. 2011. Vol. 29, № 15. URL: https://ascopubs.org/doi/abs/10.1200/jco.2011.29.15_suppl.1583
22. Song Q., Wu J., Wang S. Postoperative Monocyte Count Change Is a Better Predictor of Survival Than Preoperative Monocyte Count in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *BioMed research international*. 2019. Vol. 2019. URL: <https://downloads.hindawi.com/journals/bmri/2019/2702719.pdf>
23. Araneda M., Krishnan V., Hall K. et al. Reactive and clonal thrombocytosis: proinflammatory and hematopoietic cytokines and acute phase proteins. *Southern medical journal*. 2001. Vol. 94, № 4. P. 417–420.
24. Evstatiev R., Bukaty A., Jimenez K. et al. Iron deficiency alters megakaryopoiesis and platelet phenotype independent of thrombopoietin. 2014. Vol. 89, № 5. P. 524–529.
25. Tang Y.P., Xie M.Z., Lietal K.Z. Prognostic value of peripheral blood natural killer cells in colorectal cancer. *BMC Gastroenterology*. 2020. Vol. 20. 31 p. URL: <https://bmcgastroenterol.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s12876-020-1177-8.pdf>
26. Bazhin A.V., von Ahn K., Fritz J. et al. Interferon-alpha Up-Regulates the Expression of PD-L1 Molecules on Immune Cells Through STAT3 and p38 Signaling. *Frontiers in immunology*. 2018. Vol. 9. 2129 p. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2018.02129/full>
27. Maeda N., Maruhashi T., Sugiura D. Glucocorticoids potentiate the inhibitory capacity of programmed cell death 1 by up-regulating its expression on T cells. *The Journal of biological chemistry*. 2019. Vol. 294, № 52. P. 19896–19906.
28. Tartter P. I., Steinberg B., Barron D. M., Martinelli G. The prognostic significance of natural killer cytotoxicity in patients with colorectal cancer. *Archives of surgery*. 1987. Vol. 122, № 11. P. 1264–1268.
29. Rocca Y. S., Roberti M. P., Juliá E. P. et al. Phenotypic and Functional Dysregulated Blood NK cells in colorectal cancer Patients can be activated by cetuximab Plus IL-2 or IL-15. *Frontiers in immunology*. 2016. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2016.00413/full>
9. Matsubara D., Arita T., Nakanishi M. et al. The impact of postoperative inflammation on recurrence in patients with colorectal cancer. *International journal of clinical oncology*. 2020;25(4):602–13. (In English).
10. Valderrama-Treviño AI, Barrera-Mera B, Ceballos-Villalva JC, Montalvo-Javé EE. Hepatic Metastasis from Colorectal Cancer. *Euroasian journal of hepato-gastroenterology*. 2017;7(2):166–75. (In English).
11. Gamaleya NV, Mondrus NA. Comparison of two methods for determining Ig G, A, M (spectrophotometry and radial immunodiffusion). *Clinical laboratory diagnostics*. 1994;1:6–7. (In Russian).
12. Kudryavitsky AI Evaluation of killer bactericidal activity of peripheral blood neutrophils of healthy donors and patients in a direct visual test. *Laboratory business*. 1985;1:45–7. (In Russian).
13. Aaronson NK, Ahmedzai S, Bergman B et al. The European Organization for Research and Treatment of Cancer QLQ-C30: a quality-of-life instrument for use in international clinical trials in oncology. *Journal of the National Cancer Institute*. 1993;85(5):365–76. (In English).
14. Shparik YV, Kovalchuk IV, Bilynskyi BT. Oncologist's Handbook. *Galician Publishing Union*. 2002;128. (In Ukrainian).
15. Muñoz M, Gómez-Ramírez S, Besser M et al. Current misconceptions in diagnosis and management of iron deficiency. *Blood transfusion*. 2017;15(5):422–37. (In English).
16. Gatault S, Delbeke M, Driss V et al. IL-18 Is Involved in Eosinophil-Mediated Tumoricidal Activity against a Colon Carcinoma Cell Line by Upregulating LFA-1 and ICAM-1. *Journal of immunology*. 2015;195(5):2483–92. (In English).
17. Harbaum L, Pollheimer MJ, Kornprat P et al. Peritumoral eosinophils predict recurrence in colorectal cancer. *Modern pathology*. 2015;28(3):403–13. (In English).
18. Prizment AE, Vierkant RA, Smyrk TC et al. Tumor eosinophil infiltration and improved survival of colorectal cancer patients: Iowa Women's Health Study. *Modern pathology*. 2016;29(5):516–27. (In English).
19. Legrand F, Driss V, Delbeke M et al. Human eosinophils exert TNF-alpha and granzyme A-mediated tumoricidal activity toward colon carcinoma cells. *Journal of immunology*. 2010;185(12):7443–51. (In English).
20. Varricchi G, Galdiero MR, Loffredo S et al. Eosinophils: The unsung heroes in cancer? *Oncoimmunology*. 2018;7(2):e1393134. (In English).
21. Taghizadeh N, Vonk JM, Boezen HM. Peripheral blood eosinophil counts and risk of colorectal cancer mortality in a large general population-based cohort study. *Journal of clinical oncology*. 2011;29(15). (In English). URL: https://ascopubs.org/doi/abs/10.1200/jco.2011.29.15_suppl.1583
22. Song Q, Wu J, Wang S. Postoperative Monocyte Count Change Is a Better Predictor of Survival Than Preoperative Monocyte Count in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *BioMed research international*. 2019;2019. (In English). URL: <https://downloads.hindawi.com/journals/bmri/2019/2702719.pdf>
23. Araneda M, Krishnan V, Hall K et al. Reactive and clonal thrombocytosis: proinflammatory and hematopoietic cytokines and acute phase proteins. *Southern medical journal*. 2001;94(4):417–20. (In English).
24. Evstatiev R, Bukaty A, Jimenez K et al. Iron deficiency alters megakaryopoiesis and platelet phenotype independent of thrombopoietin. 2014;89(5):524–9. (In English).
25. Tang YP, Xie MZ, Lietal KZ. Prognostic value of peripheral blood natural killer cells in colorectal cancer. *BMC Gastroenterology*. 2020;20:31. (In English). URL: <https://bmcgastroenterol.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s12876-020-1177-8.pdf>
26. Bazhin AV, von Ahn K, Fritz J et al. Interferon-alpha Up-Regulates the Expression of PD-L1 Molecules on Immune Cells Through STAT3 and p38 Signaling. *Frontiers in immunology*. 2018;9:2129. (In English). URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2018.02129/full>
27. Maeda N, Maruhashi T, Sugiura D. Glucocorticoids potentiate the inhibitory capacity of programmed cell death 1 by up-regulating its expression on T cells. *The Journal of biological chemistry*. 2019;294(52):19896–906. (In English).
28. Tartter PI, Steinberg B, Barron DM, Martinelli G. The prognostic significance of natural killer cytotoxicity in patients with colorectal cancer. *Archives of surgery*. 1987;122(11):1264–8. (In English).
29. Rocca YS, Roberti MP, Juliá EP et al. Phenotypic and Functional Dysregulated Blood NK cells in colorectal cancer Patients can Be activated by cetuximab Plus IL-2 or IL-15. *Frontiers in immunology*. 2016. (In English). URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2016.00413/full>

Перспективи подальших досліджень

Prospects for further research

Надалі обмеження імуносупресії, викликані РЧА, може бути стратегією зменшення періоду вразливості до рецидиву раку даного втручання. В подальшому будуть проводитися відстеження залежності рівнів маркерів запалення та імунологічних показників від об'єму та локалізації пухлинних тканин при радіочастотній абляції.

In the future, limiting RFA-induced immunosuppression may be a strategy to reduce the vulnerability to cancer recurrence of this intervention. In the future, the dependence of the levels of inflammatory markers and immunological indicators on the volume and localization of tumor tissues during radiofrequency ablation will be monitored.

Конфлікт інтересів

Conflict of interest

Автори рукопису свідомо засвідчують відсутність фактичного або потенційного конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

The authors of the manuscript declare that they have no actual or potential conflict of interest that could be perceived as prejudicial to the impartiality of the article.

Інформація про фінансування

Funding information

Робота фінансується видатками Державного бюджету України.

The work is financed by the State Budget of Ukraine.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Кузьменко Олена Вікторівна – кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник лабораторії радіаційної імунології Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»; вул. Пушкінська, буд. 82, Харків, Україна, 61024; e-mail: evkuzmenko@ukr.net

моб.: +38 (067) 812-50-06

Внесок автора: аналіз отриманих результатів, написання тексту статті, статистична обробка даних.

Сорочан Павло Павлович – кандидат медичних наук, завідувач лабораторії радіаційної імунології Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»; вул. Пушкінська, буд. 82, Харків, Україна, 61024;

e-mail: pavsoro@gmail.com

моб.: +38 (067) 280-28-03

Внесок автора: корегування виконаної роботи, аналіз отриманих результатів, написання тексту статті.

Балака Святослав Миколайович – кандидат медичних наук, виконуючий обов'язки завідувача кабінету інтервенційної онкології, Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»; вул. Пушкінська, буд. 82, Харків, Україна, 61024; e-mail: balaka.svjat@gmail.com

моб.: +38 (067) 280-28-03

Внесок автора: корекція виконаної роботи, аналіз отриманих результатів, написання тексту статті.

Kuzmenko Olena Viktorivna – candidate of biological sciences, senior researcher, senior researcher of the laboratory of radiation immunology of the State of Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; 82, Pushkinska Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;

e-mail: evkuzmenko@ukr.net

tel.: +38 (067) 812-50-06

Author's contribution: analysis of the obtained results, writing of the article, statistical data processing.

Sorochan Pavlo Pavlovich – candidate of medical sciences, head of the laboratory of radiation immunology of the State of Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; 82, Pushkinska Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;

e-mail: pavsoro@gmail.com

tel.: +38 (067) 280-28-03

Author's contribution: correction of the completed work, analysis of the obtained results, writing of the article.

Balaka Svyatoslav Mykolayovych – candidate of medical sciences, acting as the head of the interventional oncology office, State of Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; 82, Pushkinska Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;

e-mail: balaka.svjat@gmail.com

tel.: +38 (067) 280-28 03

Author's contribution: correction of the completed work, analysis of the obtained results, writing of the article.

Рукопис надійшов
Manuscript was received
03.08.2022

Отримано після рецензування
Received after review
01.09.2022

Прийнято до друку
Accepted for printing
29.09.2022

Опубліковано
Published
30.09.2022