

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2023-22-4-35-42>

Анализ уровня мРНК ИЛ-10 в периферической крови больных раком и доброкачественной гиперплазией предстательной железы

О.А. Коровин^{1, 2}, А.В. Алясова², Х.М. Ариуа³, Д.В. Новиков⁴, Н.В. Красногорова^{1, 3}, В.В. Новиков^{3, 4}

¹ГБУЗ НО «Городская больница №33»; Россия, 603032 Нижний Новгород, пр-кт Ленина, 54;

²ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет»; Россия, 603005 Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

³ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»; Россия, 603022 Нижний Новгород, пр-кт Гагарина, 23;

⁴ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора; Россия, 603950 Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71

Контакты: Олег Александрович Коровин dok.kor1177@mail.ru

Введение. Интерлейкин 10 (ИЛ-10) является плеiotропным цитокином, обладает иммуномодулирующими свойствами и может ингибировать развитие и прогрессирование опухоли или стимулировать ее рост.

Цель исследования – анализ изменений уровня мРНК ИЛ-10 в периферической крови (ПК) больных раком (РПЖ) и доброкачественной гиперплазией предстательной железы (ДГПЖ) в сопоставлении с клинико-лабораторными данными.

Материалы и методы. Под наблюдением находились 63 больных с гистологически подтвержденным РПЖ и 52 больных с гистологически подтвержденной ДГПЖ. Контрольную группу составили 30 практически здоровых лиц, сопоставимых по возрасту. Определение относительного уровня мРНК ИЛ-10 в образцах ПК проводили методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с обратной транскрипцией.

Результаты. Как у больных РПЖ, так и у больных ДГПЖ в ПК наблюдалось статистически значимое снижение уровня мРНК ИЛ-10 по сравнению с группой контроля. При РПЖ самые низкие уровни выявлены у пациентов с концентрацией простатспецифического антигена выше 10 нг/л и при объеме простаты более 50 см³. Различия в уровне мРНК ИЛ-10 на Т2- и Т3-стадиях и при разной концентрации тестостерона не имели статистической значимости, хотя наблюдалась выраженная тенденция к понижению при прогностически неблагоприятных случаях. У больных ДГПЖ относительный уровень мРНК ИЛ-10 был статистически значимо выше, чем у больных РПЖ. При концентрации простатспецифического антигена выше 10 нг/мл уровень мРНК ИЛ-10 был ниже, чем при его меньших концентрациях.

Заключение. У больных РПЖ и ДГПЖ в ПК обнаружен сниженный уровень мРНК ИЛ-10. Снижение более выражено при неблагоприятном течении заболеваний и, видимо, является следствием нестабильности мРНК ИЛ-10 на посттранскрипционном уровне.

Ключевые слова: рак предстательной железы, доброкачественная гиперплазия предстательной железы, мРНК ИЛ-10

Для цитирования: Коровин О.А., Алясова А.В., Ариуа Х.М. и др. Анализ уровня мРНК ИЛ-10 в периферической крови больных раком и доброкачественной гиперплазией предстательной железы. Российский биотерапевтический журнал 2023;22(4):35–42. DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2023-22-4-35-42>

Analysis of the IL-10 mRNA level in the peripheral blood of patients with cancer and benign prostatic hyperplasia

Oleg A. Korovin^{1, 2}, Anna V. Alyasova², Khalil M. Arioua³, Dmitriy V. Novikov⁴, Natalya V. Krasnogorova^{1, 3}, Victor V. Novikov^{3, 4}

¹City Hospital No 33; 54 Lenin Ave., Nizhny Novgorod 603032, Russia;

²Privolzhsky Research Medical University; 10/1 Minin and Pozharsky pl., Nizhny Novgorod 603005, Russia;

³N.I. Lobachevsky National Research State University of Nizhny Novgorod; 23 Gagarin Ave., Nizhny Novgorod 603022, Russia;

⁴Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology; 71 Malaya Yamskaya St., Nizhny Novgorod 603950, Russia

Contacts: Oleg Alexandrovich Korovin dok.kor1177@mail.ru

Background. Interleukin-10 (IL-10) is a pleiotropic cytokine with immunomodulatory properties and may inhibit tumor development and progression or stimulate tumor growth.

Aim. Analysis of the changes of the *IL-10* mRNA level in the peripheral blood (PB) of patients with prostate cancer (PC) and benign prostatic hyperplasia (BPH) in comparison with clinical and laboratory data.

Materials and methods. 63 patients with histologically confirmed PC and 52 patients with histologically confirmed BPH were under observation. The control group consisted of 30 practically healthy persons comparable in age. Determination of the relative level of *IL-10* mRNA in PB samples was performed by real-time reverse transcription polymerase chain reaction.

Results. Both in patients with PC and in patients with BPH, a statistically significant decrease in the level of *IL-10* mRNA in the PB of patients was observed in comparison with the control. In PC, the lowest levels were found in patients with a prostate-specific antigen (PSA) concentration above 10 ng/l and with a prostate volume of more than 50 cm³. Differences in the level of *IL-10* mRNA at T2 and T3 stages and at different testosterone concentrations were not statistically significant, although there was a pronounced downward trend in prognostically unfavorable cases. Patients with BPH had a relative level of *IL-10* mRNA, which was statistically significantly higher than in patients with PC. At PSA concentrations above 10 ng/mL, the level of *IL-10* mRNA was also lower than at its lower concentrations.

Conclusion. In patients with cancer and BPH, a reduced level of *IL-10* mRNA was found in the PB. The decrease is more pronounced in the unfavorable course of diseases and, apparently, is a consequence of the instability of *IL-10* mRNA at the post-transcriptional level.

Keywords: prostate cancer, benign prostatic hyperplasia, *IL-10* mRNA

For citation: Korovin O.A., Alyasova A.V., Arioua Kh.M. et al. Analysis of the *IL-10* mRNA level in the peripheral blood of patients with cancer and benign prostatic hyperplasia. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2023;22(4):35–42. DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2023-22-4-35-42>

Введение

Интерлейкин 10 (ИЛ-10) является плеiotропным цитокином, обладает иммуномодулирующими свойствами и может ингибировать развитие и прогрессирование опухоли или стимулировать ее рост. Подчеркивается парадоксальная роль ИЛ-10 в противоопухолевом иммунитете [1]. ИЛ-10 экспрессируется широким спектром типов клеток как врожденного, так и адаптивного звена иммунной системы, включая макрофаги, моноциты, дендритные клетки, тучные клетки, эозинофилы, нейтрофилы, естественные киллеры, CD4⁺ и CD8⁺ Т- и В-клетки. Кроме того, он может продуцироваться кератиноцитами, эпителиальными клетками и некоторыми опухолевыми клетками. Диапазон клеток-респондеров также довольно широк, что обуславливает многофункциональность и разнонаправленность действия ИЛ-10 [2]. Связывание ИЛ-10 с рецептором приводит к каскаду внутриклеточных сигналов с участием янус-киназ JAK1 и TYK2 и факторов транскрипции семейства STAT [3].

Существуют противоречивые сведения об уровне ИЛ-10 в крови больных колоректальным раком, раком молочной железы, раком предстательной железы (РПЖ), что ставит под сомнение мониторинговую значимость сывороточного уровня ИЛ-10 при данных заболеваниях. Обычно уровень ИЛ-10 определяется с помощью иммуноферментного анализа. Имеются

данные как о повышении уровня ИЛ-10 в крови больных РПЖ [4, 5], так и об отсутствии изменений в его концентрации [6, 7]. Для получения дополнительной информации о роли и значимости ИЛ-10 в противоопухолевом иммунитете мы провели изучение уровня кодирующей *ИЛ-10* мРНК. В доступной литературе мы не встретили исследований, посвященных оценке изменений уровня мРНК *ИЛ-10* при РПЖ, кроме сообщения о разной частоте экспрессии мРНК *ИЛ-10* в срезах опухолей у больных РПЖ и больных с доброкачественной гиперплазией предстательной железы (ДГПЖ) [8].

Целью настоящей работы послужил анализ изменений уровня мРНК *ИЛ-10* в периферической крови (ПК) больных РПЖ и ДГПЖ в сопоставлении с клинико-лабораторными данными.

Материалы и методы

Под наблюдением находились 63 больных РПЖ в возрасте от 56 до 82 лет с гистологически доказанным диагнозом заболевания, впервые поступивших в стационар и ранее не получавших противоопухолевого лечения. Все пациенты в предоперационный период обследованы в соответствии с общепринятыми стандартами для РПЖ. Группу сравнения составили 52 пациента с гистологически подтвержденной ДГПЖ в возрасте от 56 до 82 лет.

Исследование проводили согласно био- и этическим принципам, установленным Хельсинкской декларацией. Пациенты дали информированное согласие на использование их биологического материала в научном исследовании. Контрольную группу составили 30 практически здоровых лиц, сопоставимых по возрасту с обследованными больными.

Образцы ПК пациентов забирали за 1 день до выполнения оперативного вмешательства. Уровень простатспецифического антигена (ПСА) и тестостерона (ТС) определяли с использованием наборов реагентов «ОнкоИФА-общий ПСА» и «СтероидИФА-тестостерон» («АлкорБио», Россия) с помощью анализатора Alisei Q.S. (RadimDiagnostic, Италия).

Уровень мРНК *ИЛ-10* ПК определяли с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени с обратной транскрипцией в реальном времени в соответствии с предложенным ранее методом [9]. С использованием набора «Рибо-преп» («ИнтерЛабСервис», Россия) из ПК больных выделяли нуклеиновую кислоту согласно рекомендациям производителя. Для удаления ДНК к 17 мкл препарата нуклеиновой кислоты, разведенного в воде, добавляли 2 мкл реакционного буфера (100 mM Tris-HCl pH 7,5, 25 mM MgCl₂, 1 mM CaCl₂) и 1 мкл (1 ед. акт.) DNase I RNase-free (Fermentas, Евросоюз). Полученную смесь инкубировали 30 мин при 37 °С. Для остановки реакции в смесь добавляли 2 мкл 50мМ ЭДТА и инкубировали 10 мин при 65 °С. Полученный препарат РНК использовали в реакции обратной транскрипции. К 12 мкл РНК добавляли 1 мкл (50 нг) статистических затравок, инкубировали 5 мин при 70 °С и помещали в лед на 5 мин. К смеси добавляли 6 мкл раствора, содержащего 4 мкл 5х реакционного буфера (250 mM Tris-HCl pH 8,3, 375 mM KCl, 15 mM MgCl₂), 1 мкл 10 mM смеси динуклеозидтрифосфатов (дНТФ), 1 мкл 0,1 М дитиотрейтола, 1 мкл (200 ед. акт.) M-MLV RT (Invitrogen, США) и инкубировали 30 мин при 37 °С. Реакцию останавливали нагреванием до 70 °С в течение 10 мин. Полученную кДНК использовали в полимеразной цепной реакции в реальном времени. Для этого в пробирку объемом 200 мкл с оптически прозрачной крышкой вносили 23 мкл реакционной смеси, содержащей 20 mM Tris-HCl pH 8,4, 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 0,4 mM дНТФ, по 10 пг прямого, обратного праймеров и флуоресцентно меченных зондов как для мРНК исследуемого гена, так и для мРНК гена домашнего хозяйства, 5 ед. акт. полимеразы TaqF (AmplifySens, Россия). В качестве референса использовали ген домашнего хозяйства убиквитин-лигазы C (*UBC*) [10]. Первичная структура используемых праймеров и зондов, разработанных с помощью набора компьютерных программ DNASTAR Lasergene, представлена в таблице. В реакционную смесь вносили 2 мкл кДНК, пробирку помещали

в амплификатор DTrime5 («ДНК-Технология», Россия) и инкубировали при следующих температурных условиях: 94 °С – 10 мин, 45 циклов амплификации (94 °С – 30 с, 55 °С – 30 с, 72 °С – 30 с). Уровень мРНК *ИЛ-10* рассчитывали в относительных единицах по методу $\Delta\Delta C_T$ с учетом эффективности реакции [11].

Первичная структура олигонуклеотидов

Primary structure of oligonucleotides

мРНК mRNA	Праймер Primer	Первичная структура (5'–3') Primary structure (5'–3')
<i>ИЛ-10</i> <i>IL-10</i>	Прямой Right	Gagatgccttcagcagagtga
	Обратный Reverse	Gtcttcaggttctccccag
	Зонд Zond	ROX-caaccaggttaacccttaagtctccagc-BHQ2
<i>UBC</i>	Прямой Right	Gcacagctagttccgtcgca
	Обратный Reverse	Tgcattgtcaagtgcgat
	Зонд Zond	Cy5-atttgggtcgagttctgtttgtggat-BHQ2

Результаты представлены в виде $Me (Q_1 - Q_3)$, где Me – медиана, Q_1 – нижний квартиль (25 %), (Q_3) – верхний квартиль (75 %). Для сравнения двух независимых групп по количественным признакам применяли двусторонний критерий Манна–Уитни (U), при сравнении 3 и более независимых групп использовали критерий Краскела–Уоллиса (H). Различия между группами считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Статистическую обработку данных и построение рисунков выполняли с помощью компьютерной программы Statistica версии 8.0 (StatSoft Inc., США).

Результаты

При РПЖ относительный уровень мРНК *ИЛ-10* в крови больных был в 2,6 раза ($p < 0,01$) ниже по сравнению с нормой (рис. 1), у больных ДГПЖ уровень мРНК *ИЛ-10* понижался в сравнении с нормой в 1,98 раза ($p < 0,01$), но статистически значимо превышал в 1,3 раза уровень мРНК *ИЛ-10* в крови больных РПЖ ($p < 0,02$).

Изучены изменения относительного уровня мРНК *ИЛ-10* в ПК больных с разным содержанием ТС. У больных РПЖ уровень мРНК *ИЛ-10* был в 1,5 раза ниже нормы ($p < 0,05$) в группе, имевшей концентрацию ТС до 5 ммоль/л. Снижение уровня мРНК *ИЛ-10* в сравнении с нормой в 2,9 раза ($p < 0,001$) наблюдалось при более высоком содержании ТС в пределах

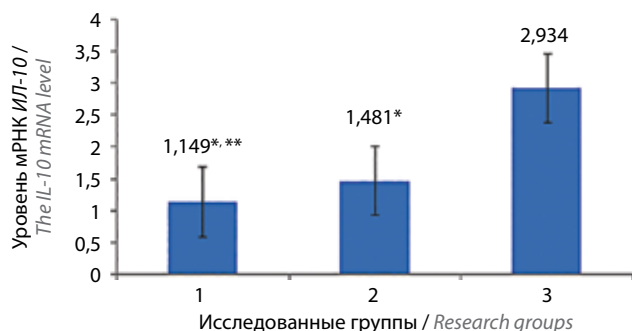


Рис. 1. Уровень мРНК ИЛ-10 в ПК больных РПЖ, ДГПЖ и здоровых лиц: 1 – группа больных РПЖ, $n = 63$; 2 – группа больных ДГПЖ, $n = 52$; 3 – группа контроля, $n = 30$; *различия статистически значимы по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$); **различия статистически значимы по сравнению с группой больных ДГПЖ ($p < 0,05$)

Fig. 1. The level of IL-10 mRNA in the peripheral blood (PB) of patients with cancer, benign prostatic hyperplasia (BPH) and healthy individuals: 1 – group of patients with prostate cancer (PC), $n = 63$; 2 – group of patients with BPH, $n = 52$; 3 – control group, $n = 30$; *differences are statistically significant compared with the control group ($p < 0,05$); **differences are statistically significant compared with the group of patients with BPH ($p < 0,05$)

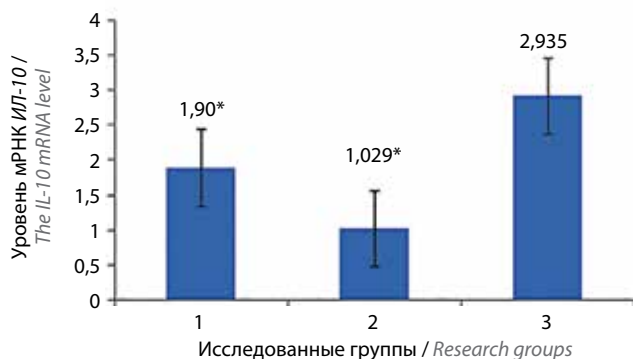


Рис. 2. Уровень мРНК ИЛ-10 в ПК больных РПЖ с разным содержанием ТС: 1 – группа больных РПЖ с уровнем ТС до 5 ммоль/л, $n = 8$; 2 – группа больных РПЖ с уровнем ТС до 15 ммоль/л, $n = 51$; 3 – группа контроля, уровень ТС $10,17 \pm 1,85$ ммоль/л, $n = 30$; *различия статистически значимы по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$)

Fig. 2. The level of IL-10 mRNA in the PB of PC patients with different level of testosterone (TS): 1 – group of patients with TS level up to 5 mmol/l, $n = 8$; 2 – group of patients with TS level up to 15 mmol/l, $n = 51$; 3 – control group, TS level $10,17 \pm 1,85$ mmol/l, $n = 30$; *differences are statistically significant compared with the control group ($p < 0,05$)

от 5 до 15 ммоль/л (рис. 2). Однако статистически значимых различий между группами не выявлено.

У больных ДГПЖ также не выявлено статистически значимых изменений в уровне мРНК ИЛ-10 между группами больных с концентрацией в крови ТС до 5 ммоль/л ($Me\ 0,7144\ [0,6192–2,519]$ отн. ед.) и концентрацией ТС 5–15 ммоль/л ($Me\ 1,481\ [0,3162–2,595]$ отн. ед.). При этом в отличие от больных РПЖ обнаруживалась выраженная тенденция к повышению уровня мРНК ИЛ-10 у больных с более высокой концентрацией ТС.

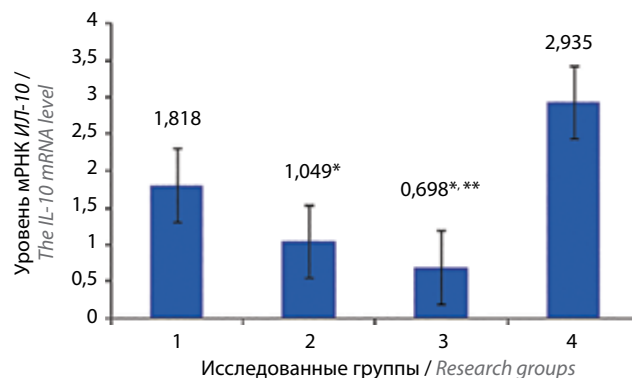


Рис. 3. Уровень мРНК ИЛ-10 в ПК больных РПЖ с разным уровнем ПСА: 1 – группа больных с уровнем ПСА до 4 нг/мл, $n = 6$; 2 – группа больных с уровнем ПСА 4–10 нг/мл, $n = 24$; 3 – группа больных с уровнем ПСА более 10 нг/мл, $n = 33$; 4 – группа контроля, уровень ПСА $2,11 \pm 0,49$ нг/мл, $n = 30$; *различия статистически значимы по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$); **различия статистически значимы по сравнению с подгруппой, имевшей ПСА до 4 нг/мл ($p < 0,05$)

Fig. 3. The level of IL-10 mRNA in the PB of PC patients with different level of prostate-specific antigen (PSA): 1 – group of patients with PSA level up to 4 ng/ml, $n = 6$; 2 – group of patients with PSA level 4–10 ng/ml, $n = 24$; 3 – group of patients with PSA level over 10 ng/ml, $n = 33$; 4 – control group, PSA level $2,11 \pm 0,49$ ng/ml, $n = 30$; *differences are statistically significant compared with the control group ($p < 0,05$); **differences are statistically significant compared with the subgroup that had PSA up to 4 ng/ml ($p < 0,05$)

Исследован уровень мРНК ИЛ-10 в крови РПЖ с разной концентрацией ПСА. Как следует из рис. 3, повышение концентрации ПСА до величин более 10 нг/мл сопровождалось прогрессирующим статистически значимым снижением уровня мРНК ИЛ-10 до значений, которые в среднем были в 4,2 раза ниже нормы ($p < 0,01$). У больных, имеющих концентрацию ПСА ниже 4 нг/мл, уровень мРНК ИЛ-10 статистически значимо отличался от данного показателя у больных с концентрацией ПСА более 10 нг/мл в 2,6 раза ($p < 0,05$).

Уровень мРНК ИЛ-10 изменялся во взаимосвязи с содержанием ПСА и при ДГПЖ, понижаясь в 5,4 раза ($p < 0,01$) от уровня нормы при концентрации ПСА более 10 нг/мл и только в 2,1 раза ($p < 0,01$) – при концентрации ПСА до 4 нг/мл (рис. 4). Различия в уровне мРНК ИЛ-10 у больных ДГПЖ, имевших концентрацию ПСА более 10 нг/мл, были статистически значимы по сравнению с больными, кровь которых содержала ПСА в меньших концентрациях.

У больных РПЖ с опухолями Т2 по классификации TNM (Tumor, Nodus, Metastasis [8-е изд., 2017]) уровень мРНК ИЛ-10 был в 2,1 раза ниже ($p < 0,01$) по сравнению со здоровыми лицами. У пациентов с опухолями Т3 уровень мРНК ИЛ-10 снижался в 3,2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с нормой (рис. 5). Статистически значимых различий между уровнями мРНК ИЛ-10 у больных с опухолями Т2 и Т3 не обнаружено.

Поражению регионарных лимфоузлов (ЛУ) сопутствовало снижение уровня мРНК *ИЛ-10* в 3,1 раза ($p > 0,05$) по сравнению с группой контроля. Отсутствие поражения ЛУ сопровождалось снижением уровня мРНК *ИЛ-10* в 2,3 раза ($p < 0,001$) по сравнению с нормой (рис. 6). Однако различия между группами больных статистически не значимы.

У больных РПЖ с простатой объемом до 25 см³ уровень мРНК *ИЛ-10* статистически значимо не отличался от нормы, при объеме простаты от 25 до 50 см³ уровень мРНК *ИЛ-10* снижался в 2,6 раза ($p < 0,01$), при объеме простаты более 50 см³ уровень мРНК *ИЛ-10* снижался в 4,5 раза ($p < 0,01$). Различия в уровне мРНК *ИЛ-10* между группами больных с разным объемом простаты были статистически не значимыми (рис. 7), но с повышением объема простаты уровень мРНК *ИЛ-10* понижался.

При ДГПЖ увеличение объема предстательной железы (ПЖ) не сопровождалось статистически значимыми изменениями уровня мРНК *ИЛ-10*. У больных с объемом ПЖ до 25 см³ тестируемый показатель равнялся 1,812 (1,236–2,564) отн. ед., при объеме ПЖ более 25 до 50 см³ он составил 1,510 (0,749–2,497) отн. ед., у лиц с объемом ПЖ более 50 см³ уровень мРНК *ИЛ-10* равен 0,879 (0,009–2,496) отн. ед. Во всех случаях сохранялись статистически значимые различия с группой контроля.

Обсуждение

Полученные результаты свидетельствуют о том, что у больных РПЖ и ДГПЖ в крови обнаруживает-

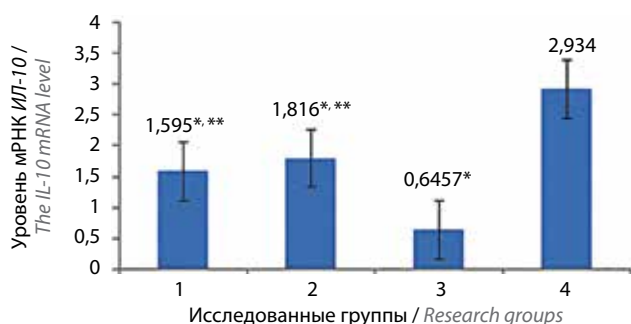


Рис. 4. Содержание мРНК *ИЛ-10* в ПК больных ДГПЖ с разным уровнем ПСА: 1 – группа с уровнем ПСА до 4 нг/мл, $n = 37$; 2 – группа с уровнем ПСА 4–10 нг/мл, $n = 9$; 3 – группа с уровнем ПСА более 10 нг/мл, $n = 5$; 4 – группа контроля, уровень ПСА $2,11 \pm 0,49$ нг/мл, $n = 30$; *различия статистически значимы по сравнению с группой контроля ($p < 0,01$); **различия статистически значимы по сравнению с 3-й группой пациентов ($p < 0,01$)

Fig. 4. The content of IL-10 mRNA in the PB of patients with BPH with different levels of prostate-specific antigen: 1 – group with PSA level up to 4 ng/ml, $n = 37$; 2 – group with PSA level of 4–10 ng/ml, $n = 9$; 3 – group with PSA level of more than 10 ng/ml, $n = 5$; 4 – control group, PSA level $2,11 \pm 0,49$ ng/ml, $n = 30$; *differences are statistically significant compared with the control group ($p < 0,01$); **differences are statistically significant compared with the 3rd group of patients ($p < 0,01$)

ся пониженный в сравнении со здоровыми лицами относительный уровень мРНК *ИЛ-10*. Низкие уровни мРНК *ИЛ-10* у больных РПЖ сопутствуют увеличению объема опухоли, распространенности заболевания, росту частотности встречаемости прогностически неблагоприятных случаев заболеваемости указанными нозологиями, а также повышению в крови содержания ТС и ПСА. У больных ДГПЖ падение относительного уровня мРНК *ИЛ-10* менее выражено, но низкие уровни мРНК *ИЛ-10* также наблюдаются при высоком содержании в крови ПСА. Обнаруженное падение относительного уровня мРНК

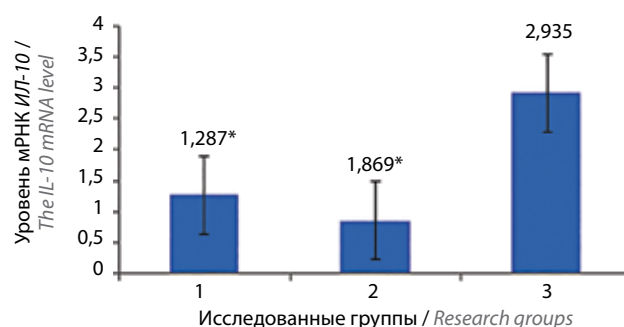


Рис. 5. Уровень мРНК *ИЛ-10* в ПК больных РПЖ с разным размером опухоли по классификации TNM: 1 – группа больных с опухолями T2, $n = 36$; 2 – группа больных с опухолями T3, $n = 23$; 3 – группа контроля, $n = 30$; *различия статистически значимы по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$)

Fig. 5. The level of IL-10 mRNA in the PB of PC patients with different tumor sizes according to the TNM classification: 1 – group of patients with T2 tumors, $n = 36$; 2 – group of patients with T3 tumors, $n = 23$; 3 – control group, $n = 30$; *differences are statistically significant compared with the control group ($p < 0,05$)

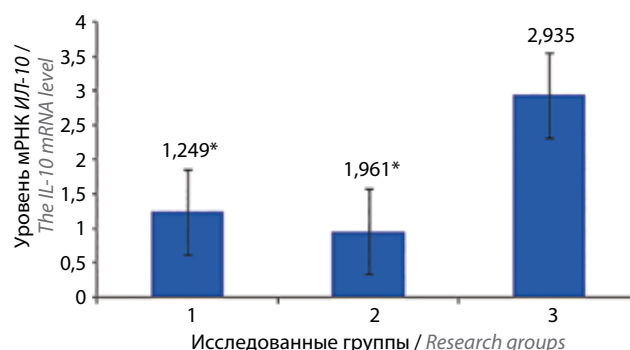


Рис. 6. Уровень мРНК *ИЛ-10* в ПК больных РПЖ с разным состоянием регионарных ЛУ: 1 – группа, имеющая поражение ЛУ, $n = 11$; 2 – группа, не имеющая поражения ЛУ, $n = 52$; 3 – группа контроля, $n = 30$; *различия статистически значимы по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$)

Fig. 6. The level of IL-10 mRNA in the PB of PC patients with different states of regional lymph nodes: 1 – group with lymph nodes lesion, $n = 11$; 2 – group without lesions of the lymph nodes, $n = 52$; 3 – control group, $n = 30$; *differences are statistically significant compared with the control group ($p < 0,05$)

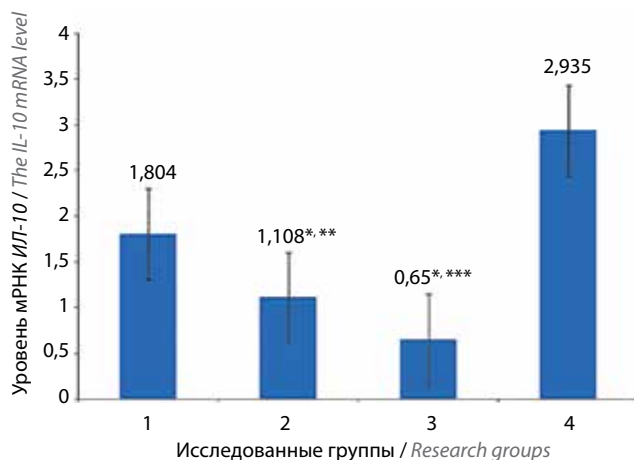


Рис. 7. Уровень мРНК ИЛ-10 в ПК больных РПЖ с разным объемом предстательной железы (ПЖ): 1 – группа с объемом ПЖ до 25 см³, n = 5; 2 – группа с объемом ПЖ более 25 до 50 см³, n = 34; 3 – группа с объемом ПЖ более 50 см³, n = 24; 4 – группа контроля, n = 30; *различия статистически значимы по сравнению с группой контроля (p < 0,01); **различия статистически значимы между группой с объемом ПЖ до 25 см³ и группой с объемом ПЖ более 25 до 50 см³ (p < 0,05); ***различия статистически значимы между группой с объемом ПЖ до 25 см³ и группой с объемом ПЖ более 50 см³ (p < 0,05)

Fig. 7. The level of IL-10 mRNA in the PB of PC patients with different prostate volume (PV): 1 – group with a PV up to 25 cm³, n = 5; 2 – group with a PV of more than 25 to 50 cm³, n = 34; 3 – group with a PV of more than 50 cm³, n = 24; 4 – control group, n = 30; *differences are statistically significant compared with the control group (p < 0,01); **differences are statistically significant between the group with a pancreatic volume of up to 25 cm³ and the group with a pancreatic volume of more than 25 to 50 cm³ (p < 0,05); ***differences are statistically significant between the group with a pancreatic volume of up to 25 cm³ and the group with a pancreatic volume of more than 50 cm³

ИЛ-10 в крови больных РПЖ и ДГПЖ, вероятно, связано с наличием у ИЛ-10 сложного регуляторного механизма, который подавляет при РПЖ синтез мРНК ИЛ-10.

Ген ИЛ-10 человека содержит 5 экзонов, 4 интрона, расположен на хромосоме 1, имеет размер ~4,7 т. п. н. Считываемая с гена мРНК ИЛ-10 несет несколько мотивов нестабильности в 3'-нетранслируемой области [12]. Промоторная область гена ИЛ-10 содержит не менее 40 полиморфных сайтов, влияющих на транскрипцию гена и обуславливающих разный риск развития опухолей. Так, полиморфизм rs1800896 гена ИЛ-10 связан со сниженным риском РПЖ, а несколько других полиморфизмов показывают значительную связь с риском РПЖ в европеоидной популяции [13, 14]. Некоторыми авторами продемонстрирован высокий уровень сывороточного ИЛ-10 при агрессивном РПЖ, а также наличие корреляции между ИЛ-10 и стадией заболевания [4, 5]. В то же время в ряде других исследований в сыворотке крови больных РПЖ не выявлено статистически значимых изменений уровня ИЛ-10 в сравнении с нормой, что ставит под сомнение мониторинговую

значимость сывороточного уровня ИЛ-10 при РПЖ [6, 7].

Известно, что количество мРНК, считываемой с одного и того же гена, распределяется по разным тканям неравномерно, и содержание белка в тканях часто не коррелирует с количеством мРНК. Это является следствием того, что регуляция экспрессии генов может осуществляться не только на уровне транскрипции, но и на посттранскрипционном уровне. Показано, что многие типы клеток экспрессируют мРНК ИЛ-10, но не все производят определяемое количество белка, и уровни экспрессии белка сильно различаются. Большая часть этих вариаций может быть объяснена посттранскрипционными механизмами. Так, множественные копии дестабилизирующих мРНК мотивов AUUUA и родственных последовательностей обнаружены в 3'-нетранслируемой области мРНК ИЛ-10, и получены доказательства их РНК-дестабилизирующей активности. При этом ИЛ-10 обладает аутоингибирующей активностью, тормозя собственный синтез за счет дестабилизации мРНК ИЛ-10 [8].

Кроме того, в регуляции экспрессии ИЛ-10 важную роль играет мРНК *hsa-miR-106a*, транскрипция которой, в свою очередь, регулируется факторами Egr1 и Sp1. Показано, что *hsa-miR-106a* снижает экспрессию ИЛ-10 за счет деградации его мРНК. Зрелая мРНК *hsa-miR-106a* регулирует экспрессию ИЛ-10, взаимодействуя с его 3'-нетранслируемой областью. Посттранскрипционный контроль, опосредованный *hsa-miR-106a*, потенциально может участвовать в точной настройке критического уровня экспрессии ИЛ-10 контекстно-зависимым образом [15–17]. На примере колоректального рака представлено, что экспрессия *hsa-miR-106a* у онкологических больных повышена и коррелирует со стадией развития опухоли; блокада ИЛ-10 резко усиливает противоопухолевый потенциал иммунной системы; существует значительная вариабельность между пациентами в отношении экспрессии ИЛ-10, а низкие уровни ИЛ-10 связаны с более высоким риском заболевания [18–21]. Можно предположить, что *hsa-miR-106a* при РПЖ также влияет на уровень экспрессии гена ИЛ-10, приводя к снижению уровня мРНК ИЛ-10.

Ранее было показано, что низкая экспрессия ИЛ-10 в опухолевых клетках увеличивает риск неблагоприятного прогноза при раке молочной железы. Соотносительный уровень мРНК ИЛ-6/ИЛ-10 намного выше у больных раком желудка с плохим прогнозом, а средний уровень ИЛ-10 в сыворотке крови был статистически значимо ниже у пациентов с колоректальным раком, чем у здоровых лиц, что соответствует полученным нами результатам по экспрессии мРНК ИЛ-10 у больных РПЖ [22–24]. Кроме того, сообщается о том, что мыши с дефицитом ИЛ-10 более

восприимчивы к спонтанному развитию опухолей кишечника по сравнению с животными дикого типа, а низкие уровни ИЛ-10 у пожилых мужчин связаны с более высоким риском развития РПЖ [25, 26].

Таким образом, выявленное снижение относительного уровня мРНК *ИЛ-10* в крови больных РПЖ и ДГПЖ, по всей видимости, является следствием сложных иммунорегуляторных механизмов, реализуемых при патологии ПЖ и отражает различия в иммунопатогенезе данных заболеваний. Представленное исследование может рассматриваться как пилотное в связи с относительно небольшим количеством

обследованных больных, а обнаруженные изменения в содержании мРНК *ИЛ-10* потенциально могут быть использованы в мониторинговых целях.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в ПК больных РПЖ и ДГПЖ снижен относительный уровень мРНК *ИЛ-10*, что, по всей видимости, является следствием нестабильности мРНК *ИЛ-10*. Самые низкие уровни мРНК *ИЛ-10* обнаружены при высоких концентрациях в крови ПСА и других прогностически неблагоприятных показателях.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Mannino H., Ziwen Z., Xiao H. et al. The paradoxical role of *IL-10* in immunity and cancer. *Cancer Letters* 2015;367(2):103–7. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.07.009
- Xuan L., Zhang N., Wang X. et al. IL-10 family cytokines in chronic rhinosinusitis with nasal polyps: From experiments to the clinic. *Front Immunol* 2022;13:947983. DOI: 10.3389/fimmu.2022.947983
- Rasquinha M.T., Sur M., Lasrado N. et al. IL-10 as a Th2 cytokine: differences between mice and humans. *J Immunol* 2021;207(9):2205–15. DOI: 10.4049/jimmunol.2100565
- Al-Nasralla A.S.H., Hussain S.S., Tektook N.K. Immunological analysis of Interleukin-10 (IL-10), tumor necrosis factor- α (TNF- α), and Prostate-specific antigen (PSA) in benign and malignant prostate cancer. *Hum Antibodies* 2023. DOI: 10.3233/HAB-220018
- Palano M.T., Gallazzi M., Cucchiara M. et al. The tumor innate immune microenvironment in prostate cancer: an overview of soluble factors and cellular effectors. *Explor Target Antitumor Ther* 2022;3(5):694–718. DOI: 10.37349/etat.2022.00108
- Katongole P., Sande O.J., Nabweyambo S. et al. IL-6 and IL-8 cytokines are associated with elevated prostate-specific antigen levels among patients with adenocarcinoma of the prostate at the Uganda Cancer Institute. *Future Oncol* 2022;18(6):661–7. DOI: 10.2217/fon-2021-0683
- Garrido M.M., Ribeiro R.M., Krüger K. et al. Are proinflammatory cytokines relevant for the diagnosis of prostate cancer? *Anticancer Res* 2021;41(6):3067–73. DOI: 10.21873/anticancer.15090
- Roya N., Fatemeh T., Faramarz M.-A. et al. Frequency of IL-10⁺CD19⁺ B cells in patients with prostate cancer compared to patients with benign prostatic hyperplasia. *Afr Health Sci* 2020;20(3):1264–72. DOI: 10.4314/ahs.v20i3.31
- Novikov D.V., Krasnogorova N.V., Gorshkova E.N. et al. Serum protein corona abolishes changes in the expression of proinflammatory genes induced by quantum dots in human blood mononuclear cell. *Bull Exp Biol Med* 2020;169(1):95–9. DOI: 10.1007/s10517-020-04832-7
- Adeola F. Normalization of gene expression by quantitative RT-PCR in human cell line: Comparison of 12 endogenous reference genes. *Ethiop J Health Sci* 2018;28(6):741–8. DOI: 10.4314/ejhs.v28i6.9
- Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{- $\Delta\Delta C_T$} method. *Methods* 2001;25(4):402–8. DOI: 10.1006/meth.2001.1262
- Brown C.Y., Lagnado C.A., Vadas M.A. et al. Differential regulation of the stability of cytokine mRNAs in lipopolysaccharide-activated blood monocytes in response to interleukin-10. *J Biol Chem* 1996;271(33):20108–12. DOI: 10.1074/jbc.271.33.20108
- Zhu Z.-Y., Liu J.-B., Liu X., Qian L.-X. Association of interleukin 10 rs1800896 polymorphism with susceptibility to breast cancer: a meta-analysis. *J Int Med Res* 2020;48(4):0300060520904863. DOI: 10.1177/0300060520904863
- Yadav U., Kumar P., Rai V. Interleukin-10 (IL-10) gene polymorphisms and prostate cancer susceptibility: Evidence from a meta-analysis. *Gene Reports* 2021;25:101377. DOI: 10.1101/2020.11.09.20228825
- Елисеева И.А., Ким Е.Р., Гурьянов С.Г. и др. Y-бокс-связывающий белок 1 (YB-1) и его функции. *Успехи биологической химии* 2011;51:65–132.
- Елисеева И.А., Ким Е.Р., Гурьянов С.Г. et al. Y-box-binding protein 1 (YB-1) and its functions. *Uspekhi biologicheskoy khimii = Advances in biological chemistry* 2011;51:65–132. (In Russ.)
- Powell M.J., Thompson S.A., Tone Y. et al. Posttranscriptional regulation of IL-10 gene expression through sequences in the 3'-untranslated region. *J Immunol* 2000;165(1):292–6. DOI: 10.4049/jimmunol.165.1.292
- Sharma A., Kumar M., Aich J. et al. Posttranscriptional regulation of interleukin-10 expression by hsa-miR-106a. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106(14):5761–6. DOI: 10.1073/pnas.0808743106
- Huang Q.-R., Pan X.B. Prognostic lncRNAs, miRNAs, and mRNAs form a competing endogenous RNA network in colon cancer. *Front Oncol* 2019;9:712. DOI: 10.3389/fonc.2019.00712
- Sullivan K.M., Jiang X., Guha P. et al. Blockade of interleukin 10 potentiates antitumor immune function in human colorectal cancer liver metastases. *Gut* 2023;72(2):325–37. DOI: 10.1136/gutjnl-2021-325808
- Townsend M.H., Felsted A.M., Piccolo S.R. et al. Metastatic colon adenocarcinoma has a significantly elevated expression of IL-10 compared with primary colon adenocarcinoma tumors. *Cancer Biol Ther* 2018;19(10):913–20. DOI: 10.1080/15384047.2017.1360453
- Borowczak J., Szczerbowski K., Maniewski M. et al. The role of inflammatory cytokines in the pathogenesis of colorectal carcinoma—recent findings and review. *Biomedicines* 2022;10(7):1670. DOI: 10.3390/biomedicines10071670
- Li Y., Yu H., Jiao S., Yang J. Prognostic value of IL-10 expression in tumor tissues of breast cancer patients. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi* 2014;30:517–20. (In Chinese) PMID: 24796749
- Zhou L., Tang C., Li X. et al. *IL-6/IL-10* mRNA expression ratio in tumor tissues predicts prognosis in gastric cancer patients without distant metastasis. *Sci Rep* 2022;12:19427. DOI: 10.1038/s41598-022-24189-3
- Abtahi S., Davani F., Mojtahedi Z. et al. Dual association of serum interleukin-10 levels with colorectal cancer. *J Cancer Res Ther* 2017;13(2):252–6. DOI: 10.4103/0973-1482.199448

25. Krause P., Morris V., Greenbaum J.A. et al. IL-10-producing intestinal macrophages prevent excessive antibacterial innate immunity by limiting IL-23. *Synthesis Nat Commun* 2015;6:7055. DOI: 10.1038/ncomms8055

26. Thomas C.E., Bauer D.C., Yuan J.-M. et al. Circulating IL-10 is associated with reduced risk of prostate cancer in a prospective cohort of elderly men: the MrOS Study. *Cancer Causes Control* 2023;34(1):59–68. DOI: 10.1007/s10552-022-01639-x

Вклад авторов

О.А. Коровин: получение данных для анализа;
А.В. Алясова, Н.В. Красногорова: анализ полученных данных, написание текста рукописи;
Д.В. Новиков: обзор публикаций по теме статьи;
Х.М. Ариуа: получение данных для анализа;
В.В. Новиков: разработка дизайна исследования, написание текста рукописи.

Author's contributions

O.A. Korovin: obtaining data for analysis;
A.V. Alyasova, N.V. Krasnogorova: obtaining data for analysis, manuscript writing;
D.V. Novikov: review of publications on the topic of the article;
Kh.M. Arioua: obtaining data for analysis;
V.V. Novikov: research design development, manuscript writing.

ORCID авторов / ORCID of authors

О.А. Коровин / O.A. Korovin: <https://orcid.org/0009-0002-2326-1265>
А.В. Алясова / A.V. Alyasova: <https://orcid.org/0000-0003-2621-0359>
Д.В. Новиков / D.V. Novikov: <https://orcid.org/0000-0001-7049-6935>
Х.М. Ариуа / K.M. Arioua: <https://orcid.org/0000-0003-1179-2552>
Н.В. Красногорова / N.V. Krasnogorova: <https://orcid.org/0000-0002-8800-4553>
В.В. Новиков / V.V. Novikov: <https://orcid.org/0000-0002-2449-7213>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Funding. The study was performed with out external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Работу с кровью и образцами опухолей проводили в соответствии с международными правилами работы с биологическим материалом. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The work with blood and tumor samples was carried out in accordance with the international rules for working with biological material. All patients signed informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 11.05.2023. Принята к публикации: 13.10.2023.

Article submitted: 11.05.2023. Accepted for publication: 13.10.2023.