

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-39-48>

# Уровень мРНК *FCGR3A* (CD16A) и *FCGR3B* (CD16B) в крови больных раком предстательной железы

Д. В. Новиков<sup>1,2</sup>, Х. М. Ариуа<sup>1</sup>, О. А. Коровин<sup>3</sup>, А. В. Калугин<sup>1</sup>, С. В. Шумилова<sup>1</sup>, А. В. Алясова<sup>3</sup>,  
Л. Хамидани<sup>4</sup>, В. В. Новиков<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского»; Россия, 603022 Нижний Новгород, пр-кт Гагарина, 23;

<sup>2</sup>ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. акад. И. Н. Блохиной» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; Россия, 603950 Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России; Россия, 603950 Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

<sup>4</sup>Университет Баджи Мохтара—Аннаба; Алжир, 23000 Аннаба, Хассен Шауш, 17

**Контакты:** Халил Мухаммедович Ариуа [khalil256@outlook.fr](mailto:khalil256@outlook.fr)

**Введение.** Матричные РНК (мРНК) *FCGR3A* и *FCGR3B* транслируют синтез мембранных молекул CD16A и CD16B, являющихся низкоаффинными рецепторами иммуноглобулина (Ig) G на разных клетках иммунной системы и участвующих в иммунном ответе на опухоли.

**Цель исследования** – определение в периферической крови больных раком предстательной железы (РПЖ) уровня мРНК *FCGR3A* и мРНК *FCGR3B*.

**Материалы и методы.** Исследовали образцы крови 47 больных РПЖ и 31 здорового донора крови. Относительный уровень мРНК *FCGR3A* и *FCGR3B* в крови больных и здоровых доноров определяли с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени.

**Результаты.** Показано, что относительный уровень мРНК *FCGR3A* и *FCGR3B* в крови больных РПЖ превышает уровень, регистрируемый у волонтеров. Относительный уровень мРНК *FCGR3A* повышается с возрастом, при увеличении концентрации простатспецифического антигена (ПСА), объема и жесткости предстательной железы и при наличии метастазов. Различия в концентрации тестостерона, индексе Глисона, стадии заболевания и распространенности опухоли не сопровождалась изменениями в уровне мРНК *FCGR3A*. Для мРНК *FCGR3B* выявлен другой характер изменений. С увеличением концентрации ПСА и жесткости простаты повышенный уровень мРНК *FCGR3B* снижался, приближаясь к норме. В отсутствие метастазов он был выше, чем при их наличии. Регистрированы тенденции к повышению уровня мРНК *FCGR3B* при увеличении стадии заболевания, концентрации тестостерона до 7 ммоль/л и выше, а также градации индекса Глисона до 7 и более.

**Заключение.** Обнаружены разнонаправленные изменения уровня мРНК *FCGR3A* и мРНК *FCGR3B* с повышением тяжести течения РПЖ. Вероятно, выявленный характер изменения уровня мРНК *FCGR3A* и мРНК *FCGR3B* связан с дозозависимым действием ПСА на их уровень. Результаты указывают на возможное мониторинговое значение уровня мРНК *FCGR3A* и мРНК *FCGR3B* в крови больных РПЖ.

**Ключевые слова:** матричные РНК *FCGR3A* (CD16A), мРНК *FCGR3B* (CD16B), рак предстательной железы, периферическая кровь

**Для цитирования:** Новиков Д. В., Ариуа Х. М., Коровин О. А. и др. Уровень мРНК *FCGR3A* (CD16A) и *FCGR3B* (CD16B) в крови больных раком предстательной железы. Российский биотерапевтический журнал 2024;23(4):39–48. DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-39-48>

## *FCGR3A* (CD16A) and *FCGR3B* (CD16B) mRNA levels in the blood of prostate cancer patients

Dmitry V. Novikov<sup>1,2</sup>, Khalil M. Arioua<sup>1</sup>, Oleg A. Korovin<sup>3</sup>, Alexandr V. Kalugin<sup>1</sup>, Svetlana V. Shumilova<sup>1</sup>,  
Anna V. Alyasova<sup>3</sup>, Lydia Hamidani<sup>4</sup>, Viktor V. Novikov<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod; 23 Prospekt Gagarina, Nizhny Novgorod 603022, Russia;

<sup>2</sup>I. N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare; 71 Malaya Yamskaya St., Nizhny Novgorod 603950, Russia;

<sup>3</sup>Privolzhsky Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 10/1 Minina and Pozharskogo Square, Nizhny Novgorod 603950, Russia;

<sup>4</sup>Badji Mokhtar University—Annaba; 17 Hassen Chaouche, Annaba 23000, Algeria

**Contacts:** Khalil Muhammedovich Arioua [khalil256@outlook.fr](mailto:khalil256@outlook.fr)

**Background.** *FCGR3A* and *FCGR3B* messengers RNA (mRNA) translate the synthesis of membrane molecules of CD16A and CD16B, which are low-affinity immunoglobulin (Ig) G receptors bound to different cells of the immune system and involved in the immune response to tumors.

**Aim.** The aim of this study was to determine the level of *FCGR3A* and *FCGR3B* mRNA in the peripheral blood of patients with prostate cancer (PC).

**Materials and methods.** Blood samples from 47 prostate cancer patients and 31 healthy blood donors were examined. The relative level of *FCGR3A* and *FCGR3B* mRNA in the blood of patients and healthy donors was determined by reverse transcription polymerase chain reaction in real time (real-time RT-PCR).

**Results.** It has been shown that the relative level of *FCGR3A* and *FCGR3B* mRNA in the blood of PC patients exceeds the level evaluated in volunteers. The relative level of *FCGR3A* mRNA increases with age, with an increase in PSA concentration, prostate volume and stiffness, and in the presence of metastases. Differences in testosterone concentration, Gleason score, disease stage and tumor spread were not accompanied by changes in *FCGR3A* mRNA level. For *FCGR3B* mRNA, a different manner of its changes was revealed. As PSA concentration and prostate tissue stiffness increased, elevated *FCGR3B* mRNA level decreased, reaching normal levels. In the absence of metastases, it was higher than if they were present. In addition, trends towards an increase in the level of *FCGR3B* mRNA were revealed with an increase in the stage of the disease, the concentration of testosterone to 7 mmol/L and above, as well as the Gleason score to 7 and above.

**Conclusion.** Multidirectional changes in *FCGR3A* and *FCGR3B* mRNA levels were found with an increase in the severity of PC. Probably, the revealed nature of the change in the level of *FCGR3A* and *FCGR3B* mRNA associated with the dose-dependent effect of PSA on their level. The results indicate a possible monitoring value of *FCGR3A* mRNA and *FCGR3B* mRNA levels in the blood of PC patients.

**Keywords:** *FCGR3A* (CD16A) messenger RNA, *FCGR3B* (CD16B) messengers RNA, prostate cancer, peripheral blood

**For citation:** Novikov D.V., Arioua K.M., Korovin O.A. et al. *FCGR3A* (CD16A) and *FCGR3B* (CD16B) mRNA levels in the blood of prostate cancer patients. Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy 2024;23(4):39–48. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-39-48>

## Введение

Молекулы CD (cluster of differentiation) 16 являются низкоаффинными рецепторами иммуноглобулина (Ig) класса G, связывают IgG в виде иммунных комплексов со специфичностью к подклассам IgG1 и IgG3 и кодируются 2 генами — *FCGR3A* и *FCGR3B*. Продукты этих генов близки по строению и экспрессируются на разных типах клеток. Молекула CD16A (*FCGR3A*), кодируемая 1-м геном, является трансмембранным белком и экспрессируется на мембранах натуральных киллеров (NK). С разной плотностью она экспрессируется также на моноцитах, тканевых макрофагах,  $\gamma\delta$ T-лимфоцитах, дендритных клетках. Для передачи сигнала в клетку после взаимодействия с молекулой IgG этот трансмембранный рецептор использует  $\gamma$ -цепь Fc $\epsilon$ R1 и/или  $\zeta$ -цепь CD3-антигена. NK-клетки периферической крови, экспрессирующие молекулу CD16A, представляют собой зрелую субпопуляцию с невысоким уровнем мембранного CD56 (CD56<sup>dim</sup>). В тканях большинство NK-клеток представляют собой менее зрелую популяцию с высокой экспрессией CD56 (CD56<sup>bright</sup>), но низким уровнем CD16A. Через CD16A реализуется антителозависимая клеточная цитотоксичность, направленная на опухолевые и вирусинфицированные клетки, а также происходит активация клеток [1, 2].

Молекула CD16B (*FCGR3B*), кодируемая 2-м геном, «заякоревается» на поверхности клеток через гликозилфосфатидилинозитол. Она является молекулярным маркером нейтрофилов, экспрессируется на низком уровне на базофилах и выявляется на эозинофилах после индукции интерфероном  $\gamma$  [3]. Молекула CD16B способна передавать сигнал при взаимодействии Fc $\gamma$ R2a с  $\beta^2$ -интегрином Mac-1 (macrophage-1 antigen). Предполагается ее участие в индукции сигналов с участием Ca<sup>2+</sup> с вовлечением киназ семейства Tec. Хорошо известно, что нейтрофилы играют важную роль в воспалительной реакции, но роль CD16B-молекул до сих пор остается малоизученной. Тем не менее показано, что нетоз нейтрофилов может быть индуцирован через CD16B и Mac-1 [4]. Продемонстрировано, что как нейтрофилы, циркулирующие в периферической крови, так и опухолеассоциированные нейтрофилы с высоким уровнем экспрессии CD16B способны оказывать проопухолевое действие путем супрессии T-клеточной пролиферации через механизм, связанный с остановкой клеточного цикла, но не индукцией апоптоза. Обнаружено, что при некоторых опухолях высокий уровень CD66b<sup>+</sup> CD11b<sup>bright</sup> CD16<sup>bright</sup> зрелых нейтрофилов малой плотности коррелирует с неблагоприятным исходом [5].

Оценка экспрессии мембранных молекул CD16 с помощью моноклональных антител используется для определения популяционного состава клеток периферической крови при различных, в том числе онкологических, заболеваниях [6]. В дополнение к этому анализ экспрессии генов, кодирующих молекулы CD16A и CD16B, может дать новую мониторинговую информацию на транскрипционном уровне. Так, показано, что уровень матричной РНК (мРНК) CD16A и CD16B может рассматриваться как потенциальный иммунологический маркер при колоректальном раке [7, 8].

**Целью** настоящего исследования явилось определение в периферической крови больных раком предстательной железы (РПЖ) уровня мРНК *FCGR3A* и мРНК *FCGR3B*.

### Материалы и методы

В работе использовали образцы крови 47 больных РПЖ с гистологически подтвержденным диагнозом в возрасте 56–82 лет (медиана  $66,0 \pm 2,0$  года), впервые поступивших в стационар и ранее не получавших противоопухолевого лечения. Исследование проводили согласно биоэтическим и этическим принципам, установленным Хельсинкской декларацией. Пациенты дали информированное согласие на использование их биологического материала в научном исследовании. В сопоставимую по возрасту контрольную группу вошел 31 практически здоровый волонтер. Больные РПЖ в предоперационный период обследованы в соответствии с общепринятыми стандартами.

Всем больным назначали трансректальное ультразвуковое исследование простаты, магнитно-резонансную томографию органов малого таза, определение уровня простатспецифического антигена (ПСА) и тестостерона. Плотность ткани простаты оценивали с помощью соноэластографии и выражали с использованием коэффициента жесткости [9]. Уровень ПСА и тестостерона определяли с использованием наборов реагентов «Онко ИФА-общий ПСА» и «Стероид ИФА-тестостерон» («АлкорБио», Россия) с помощью анализатора Alisei Q.S. (Radim Diagnostic, Италия). Уровень мРНК *FCGR3A* и мРНК *FCGR3B* определяли в соответствии с разработанным ранее методом [7].

Все исследуемые образцы смешивали с равным объемом консервирующего раствора (4М гуанидин-тиоцианат, 100 мМ цитрат натрия и 0,1 % TritonX-100) и хранили при  $-20^\circ\text{C}$  до использования. Выделение нуклеиновых кислот проводили фенол-хлороформным методом. Комплементарную ДНК синтезировали с использованием обратной транскриптазы M-MLV («Силекс», Россия) согласно рекомендациям производителя. Определение относительных уровней мРНК *FCGR3A* и *FCGR3B* проводили с помощью полимераз-

ной цепной реакции в реальном времени на амплификаторах DTlite 4 («ДНК-Технология», Россия) и CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (BioRad, США) при следующих температурных условиях:  $94^\circ\text{C} - 10$  мин, 50 циклов полимеразной цепной реакции  $94^\circ\text{C} - 20$  с,  $60^\circ\text{C} - 20$  с,  $72^\circ\text{C} - 20$  с. Реакционная смесь содержала 70 мМ Трис-НСl, рН 8,3, 16 мМ  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 2 мМ  $\text{MgCl}_2$ , 2,5 единицы активности HotTaq-полимеразы («Силекс», Россия), 0,8 мМ дезоксинуклеозидтрифосфатов и по 0,4 пМ каждого из олигонуклеотидов («Синтол», Россия), последовательности которых представлены в табл. 1.

Уровни мРНК рассчитывали по формуле  $\Delta\Delta\text{Ct}$  с учетом эффективности реакции [10]. Нормировку уровней мРНК в тестируемых образцах проводили относительно уровня мРНК убиквитина С (UBC) и тирозин 3-монооксигеназы/триптофан 5-монооксигеназы активационного протеина зета (YWHAZ). Каждый образец анализировали в 3 повторностях и высчитывали среднее значение.

Статистическую обработку данных выполняли методами статистики с помощью пакета компьютерных программ GraphPad Prism 8.4.3 (GraphPad Software, США). Исследованные количественные показатели представлены в виде  $Me (Q_1-Q_3)$ , где  $Me$  – медиана,  $Q_1$  – нижний квартиль (25 %),  $Q_3$  – верхний квартиль (75 %). Для сравнения 2 независимых групп по количественным признакам применяли двусторонний  $U$ -тест критерия Манна–Уитни. Различия между группами полагали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Для установления связей между уровнями мРНК и показателями опухолевого роста рассчитывали коэффициент корреляции Спирмена.

### Результаты и обсуждение

При определении уровней мРНК *FCGR3A* и *FCGR3B* в периферической крови здоровых лиц и больных РПЖ показано, что мРНК детектировались во всех исследуемых образцах. Содержание мРНК *FCGR3A* у больных РПЖ статистически значительно превышало норму в 2,8 раза: 2,778 (1,662–4,257) против 0,989 (0,4184–2,325);  $p = 0,001$ . В свою очередь, относительный уровень мРНК *FCGR3B* также был статистически значимо выше контроля: 3,186 (1,700–6,085) против 1,629 (0,4161–5,434);  $p = 0,01$  (рис. 1).

Обнаружены статистически значимые различия в уровне мРНК *FCGR3A* и *FCGR3B* у больных разного возраста. В сравнении с пациентами до 70 лет больные старше 70 лет имели в 1,5 раза более высокий уровень мРНК *FCGR3A* и в 3,4 раза больший уровень мРНК *FCGR3B*.

Как известно, НК-клетки в настоящее время рассматривают как маркер старения иммунной системы. Сообщается об увеличении количества НК-клеток с возрастом. Показано, что старение вызывает

Таблица 1. Последовательности олигонуклеотидов, использованных в исследовании

Table 1. The sequences of the primers and probes used in this study

Ген Gene	Олигонуклеотид Oligonucleotide	Последовательность олигонуклеотида (5'→3') Oligonucleotide sequence (5'→3')
<i>FcγRIIA</i>	Uni-F	CAGCTGGCATGCGGACTGA
	RA-R	CACTGTCCTTCTCGAGCACC
	FAB-Z	ROX-CTGTGGTGTTCCTGGAGCCTCAATGGTA-BHQ-2
<i>FcγRIIB</i>	Uni-F	CAGCTGGCATGCGGACTGA
	RB-R	CACTGTCCTTCTCAAGCAGC
	FAB-Z	ROX-CTGTGGTGTTCCTGGAGCCTCAATGGTA-BHQ-2
<i>YWHAZ</i>	YW-F	TGCAATGATGTACTGTCTCT
	YW-R	ACTGATCGACAATCCCTTTC
	YW-Z	Cy5-ATTACTACCGTTACTTGGCTGAGGTTGCC-BHQ-2
<i>UBC</i>	UBC-F	GCACAGCTAGTTCGTCGCA
	UBC-R	TGCATTGTCAAGTGACGAT
	UBC-Z	Cy5-ATTTGGGTCGCAGTTCTTGTTTGTGGAT-BHQ-2

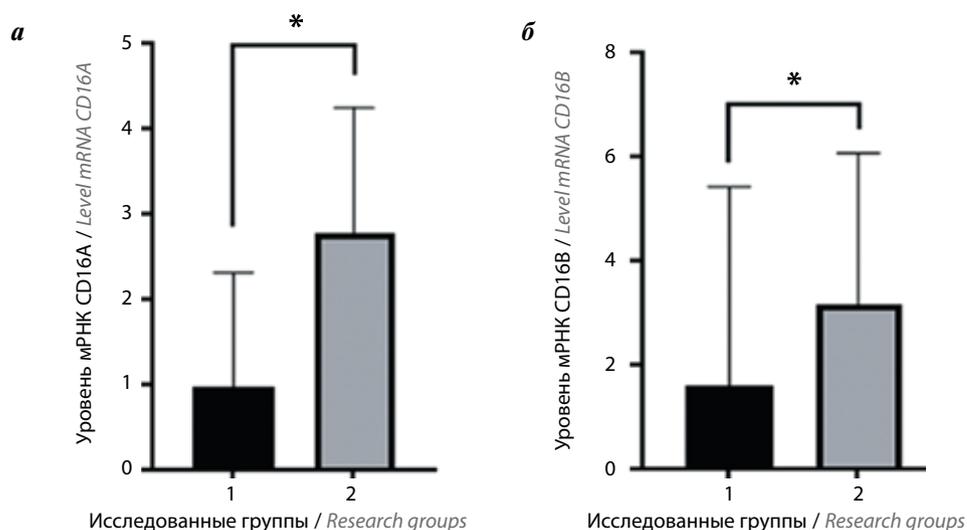


Рис. 1. Уровень мРНК *FCGR3A* и *FCGR3B* в периферической крови больных раком предстательной железы (РПЖ): а – мРНК *FCGR3A*; б – мРНК *FCGR3B*; 1 – здоровые волонтеры, n = 31; 2 – больные РПЖ, n = 47; \*различия статистически значимы в сравнении со здоровыми волонтерами (p < 0,05).

Fig. 1. Levels of *FCGR3A* mRNA and *FCGR3B* mRNA in peripheral blood of prostate cancer (PC) patients: а – *FCGR3A* mRNA level; б – *FCGR3B* mRNA level; 1 – healthy volunteers, n = 31; 2 – PC patients, n = 47; \*differences are statistically significant compared to healthy volunteers (p < 0.05).

перераспределение субпопуляций НК-клеток, о чем свидетельствует уменьшение CD56<sup>bright</sup>-клеток и увеличение CD56<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup> НК-клеток [11]. С возрастом зарегистрировано повышение количества циркулирующих в крови CD16<sup>+</sup> моноцитов [12]. Можно предположить, что обнаруженное нами повышение уровня мРНК CD16A является следствием увеличения содержания CD16<sup>+</sup> НК-клеток и CD16<sup>+</sup> моноцитов в крови. Для лиц разного возраста показаны возраст-

ные изменения в количестве нейтрофилов периферической крови. Хорошо известно, что количество нейтрофилов самое низкое в раннем детстве и увеличивается с возрастом. Продемонстрированы также возрастные изменения в экспрессии Fcγ-рецепторов, в том числе *FCGR3B* [13, 14]. Обнаруженное нами более высокое содержание мРНК *FCGR3B* у больных возрастом старше 70 лет, видимо, является отражением таких изменений.

**Таблица 2.** Содержание мРНК FCGR3A и FCGR3B в периферической крови больных раком предстательной железы в сравнении с клиническими и патологическими показателями, Me ( $Q_1$ – $Q_3$ )Table 2. Content of FCGR3A and FCGR3B mRNA in peripheral blood of prostate cancer patients depending on clinical and pathological parameters, Me ( $Q_1$ – $Q_3$ )

Показатель Parameter	Величина Category	Численность выборки Sample size	мРНК FCGR3A FCGR3A mRNA	мРНК FCGR3B FCGR3B mRNA
Возраст пациентов Age of patients	До 70 лет Under 70 years old	25	2,136 (0,8923–3,339)	1,618 (0,5897–3,453)**
	70 лет и старше 70 years old and over	21	3,165 (1,762–4,999)*	5,449 (3,128–7,467)*
Уровень тестостерона Testosterone level	<7 ммоль/л <7 mmol/L	20	2,615 (1,699–3,907)*	2,238 (1,336–4,902)
	≥7 ммоль/л ≥7 mmol/L	25	2,707 (1,275–5,162)*	4,468 (2,255–7,128)*
Объем простаты Prostate gland volume	≤25 см <sup>3</sup> ≤25 cm <sup>3</sup>	8	1,344 (0,3656–4,998)	2,163 (1,336–4,703)
	25–50 см <sup>3</sup> 25–50 cm <sup>3</sup>	31	2,504 (1,463–4,257)*	3,728 (2,228–6,085)*
	≥51 см <sup>3</sup> ≥51 cm <sup>3</sup>	6	2,785 (2,351–3,354)*	2,006 (1,212–3,548)
Индекс Глисона Gleason Score	<7	17	2,5588 (1,890–5,264)*	2,614 (1,537–5,236)
	≥7	30	2,671 (1,380–4,257)*	4,349 (2,228–6,648)*
Размер опухоли (стадия T) Tumor size (T stage)	T2	28	2,778 (1,812–5,413)*	3,186 (2,228–6,085)*
	T3	18	2,531 (1,156–3,691)*	3,728 (1,996–8,024)*
Распространенность опухолевого процесса Tumor spread	Одна доля Either left or right lobe	24	2,497 (0,9113–3,671)*	3,186 (1,403–6,085)*
	Обе доли Both left and right lobes	20	2,856 (2,048–5,722)*	3,457 (2,233–6,352)*
Отдаленные метастазы Distant metastases	M0	19	2,504 (1,812–3,788)*	6,648 (2,952–8,761)*
	M1	20	4,551 (2,847–9,040)*, ***	4,349 (2,522–5,406)*, ***
Здоровые волонтеры Healthy volunteers		31	0,9894 (0,4184–2,325)	1,629 (0,4161–5,434)

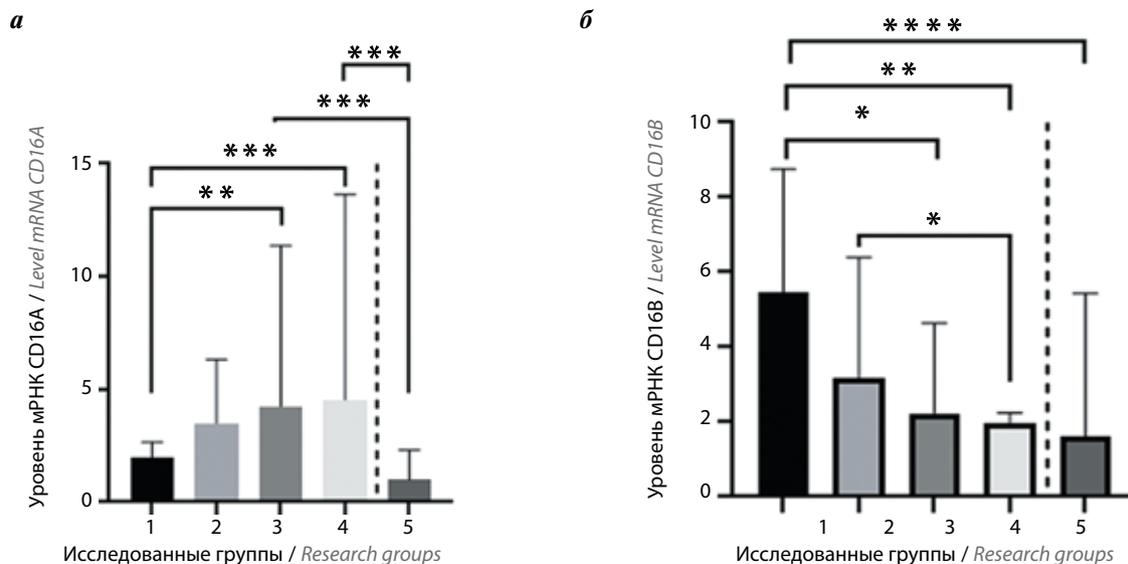
Для оценки наличия статистически значимых различий между двумя независимыми группами по количественному признаку применяли двусторонний U-тест критерия Манна–Уитни,  $p < 0,05$ : \*в сравнении с нормой; \*\* в сравнении с больными старше 70 лет; \*\*\* в сравнении с больными без метастазов.

The two-tailed Mann–Whitney U-test was used to evaluate the presence of statistically significant differences between two independent groups, with  $p < 0.05$ : \*in comparison with healthy volunteers; \*\*in comparison with over 70 years old patients; \*\*\*in comparison with metastasis-free patients.

Выявленное при лабораторном обследовании повышение содержания ПСА в крови пациентов сопровождалось прогрессирующим статистически значимым ростом уровня мРНК FCGR3A. Максимальное содержание мРНК FCGR3A было зарегистрировано у больных с уровнем ПСА более 30 нг/мл. Оно статистически значимо превосходило уровень у здоровых волонтеров в 4,6 раза и было выше в 2,3 раза содержания мРНК FCGR3A у больных с уровнем ПСА менее 10 нг/мл. Соответственно, при уровне ПСА

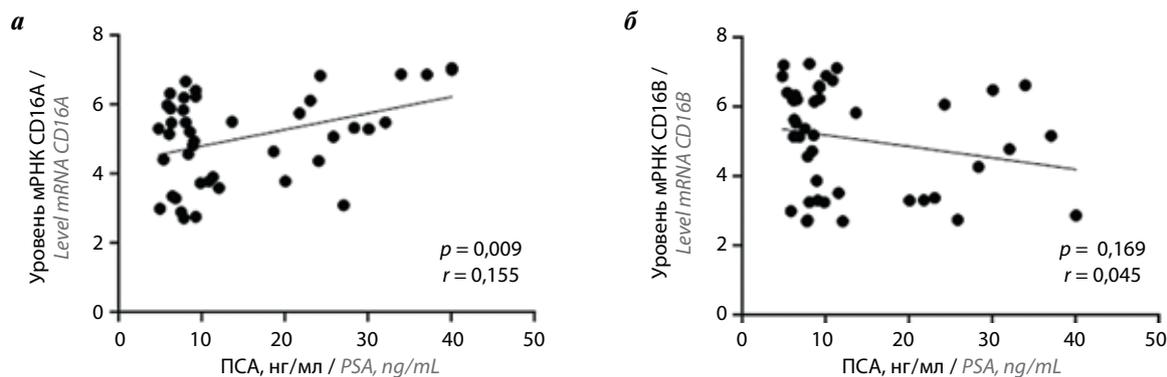
в пределах от 11 до 20 и от 21 до 30 нг/мл содержание мРНК FCGR3A было в 3,5 и 4,3 раза выше нормы ( $p < 0,05$ ) (рис. 2). Уровень мРНК FCGR3B был наиболее высок у больных РПЖ с содержанием ПСА до 10 нг/мл и превышал норму в 3,4 раза, а затем при повышении содержания ПСА более 20 нг/мл он дозозависимо понижался, приближаясь к норме.

Корреляционный анализ выявил наличие слабой, но статистически значимой связи между уровнем ПСА и мРНК FCGR3A в крови больных РПЖ (рис. 3).



**Рис. 2.** Содержание мРНК *FCGR3A* и *FCGR3B* в периферической крови больных раком предстательной железы при различном содержании простатспецифического антигена (ПСА): а – мРНК *FCGR3A*; б – мРНК *FCGR3B*; 1 – ПСА до 10 нг/мл, n = 21; 2 – ПСА от 11 до 20 нг/мл, n = 9; 3 – ПСА от 21 до 30 нг/мл, n = 7; 4 – ПСА от 31 нг/мл, n = 6; 5 – здоровые волонтеры, n = 30; \*p < 0,05; \*\*p < 0,01; \*\*\*p < 0,001; \*\*\*\*p < 0,0001.

**Fig. 2.** The content of *FCGR3A* and *FCGR3B* mRNA in the peripheral blood of prostate cancer patients with different prostate-specific antigen (PSA) values in the blood: A – *FCGR3A* mRNA level; B – *FCGR3B* mRNA level; 1 – PSA value is up to 10 ng/mL, n = 21; 2 – PSA value ranges from 11 to 20 ng/mL, n = 9; 3 – PSA value ranges from 21 to 30 ng/mL, n = 7; 4 – PSA value is either 31 ng/mL or more, n = 6; 5 – healthy volunteers, n = 30; \*p < 0.05; \*\*p < 0.01; \*\*\*p < 0.001; \*\*\*\*p < 0.0001.



**Рис. 3.** Результаты анализа корреляционных связей между уровнем простатспецифического антигена (ПСА) и мРНК *FCGR3* в крови больных РПЖ: а – ПСА и мРНК *FCGR3A*; б – ПСА и мРНК *FCGR3B*

**Fig. 3.** Results of correlation analysis between prostate-specific antigen (PSA) concentration and *FCGR3* mRNA level in the blood of PC patients: а – PSA value and *FCGR3A* mRNA level; б – PSA value and *FCGR3B* mRNA level

Для мРНК *FCGR3B* такой взаимосвязи не выявлено, несмотря на статистически значимые различия в уровне мРНК между группами больных с разной концентрацией ПСА.

Полученные результаты свидетельствуют о повышении уровня мРНК *FCGR3A* и *FCGR3B* в периферической крови больных РПЖ. При этом были выявлены и различия в характере изменения уровня мРНК *FCGR3A* и *FCGR3B*. Так, увеличение уровня ПСА сопровождалось повышением уровня мРНК *FCGR3A*, но уровень мРНК *FCGR3B* при этом понижался до нормы у больных с концентрацией ПСА более

20 нг/мл. Хорошо известно, что уровень ПСА является одним из прогностических показателей РПЖ. При этом предполагается защитная роль ПСА в развитии опухоли [15]. ПСА представляет собой сериновую протеазу, обладающую многонаправленным действием. Благодаря протеолитической активности ПСА может высвобождать свободный биоактивный инсулиноподобный фактор роста 1 [16]. Показано, что в опухолевых клетках при РПЖ он модулирует экспрессию более 700 генов, участвующих в ангиогенезе, росте опухоли и метастазировании, стимулирует выработку активных форм кислорода, на мышинных

моделях снижает скорость роста опухоли [17]. ПСА действует как на транскрипционном, так и трансляционном уровне, оказывая дозозависимое внутри- и межклеточное влияние на биологические механизмы и играя важную роль в патогенезе рака простаты [18]. Вероятно, гены, кодирующие CD16A и CD16B, также подвержены дозозависимому модулирующему действию ПСА, что по-разному сказывается на уровне мРНК *FCGR3A* и *FCGR3B* в крови.

Уровень мРНК *FCGR3A* и *FCGR3B* в периферической крови больных РПЖ был повышен в сравнении с нормой как при содержании тестостерона ниже 7 ммоль/л, так и при его содержании выше 7 ммоль/л (см. табл. 2). При этом регистрировалась тенденция к увеличению уровня мРНК *FCGR3B* при повышении уровня тестостерона, которая подтверждалась при корреляционном анализе ( $p = 0,046$ ,  $r = 0,093$ ).

Полученные нами результаты об отсутствии дозозависимого действия тестостерона на уровень мРНК *FCGR3A* в крови находятся в соответствии с данными литературы. Показано, что НК-клетки, являющиеся основными носителями CD16A, не имеют рецептора тестостерона на мембране, вследствие чего тестостерон не способен оказывать прямое действие на количество и функциональную активность НК-клетки [19]. В то же время моноциты и нейтрофилы несут на своей мембране рецептор тестостерона, их созревание зависит от уровня данного гормона, и повышение концентрации тестостерона приводит к увеличению в крови их уровня [20]. Выявленное нами более высокое содержание мРНК *FCGR3B* при уровне тестостерона  $\geq 7$  ммоль/л, видимо, является результатом действия тестостерона на нейтрофилы периферической крови.

Увеличение объема простаты сопровождалось повышением в крови уровня как мРНК *FCGR3A*, так и мРНК *FCGR3B*. Максимальный уровень мРНК *FCGR3A* регистрировался при объеме простаты более 51 см<sup>3</sup>. Максимальный уровень мРНК *FCGR3B* обнаруживался при объеме простаты 25–50 см<sup>3</sup>, а у пациентов с большим объемом простаты он возвращался к уровню больных с объемом простаты до 25 см<sup>3</sup>.

Ранее было показано, что существует связь между объемом опухоли и уровнем ПСА, что объем опухоли имеет прогностическую ценность, однако он не дает дополнительной информации в сравнении с другими показателями [21], т. е. за счет повышения объема опухоли может увеличиваться продукция ПСА, способного дозозависимо воздействовать на экспрессию генов [22]. Следствием такого действия может быть повышенный уровень мРНК *FCGR3B* при средних объемах опухоли (25–50 см<sup>3</sup>) и средних концентрациях ПСА (10–30 нг/мл) в крови больных.

Определение уровня мРНК *FCGR3A* у больных с разным индексом Глисона не обнаружило статисти-

чески значимых различий при индексе  $< 7$  и  $\geq 7$ . В обоих случаях уровень мРНК *FCGR3A* находился на среднем для общей группы больных уровне. Однако при увеличении индекса Глисона до 7 и более была выявлена выраженная тенденция к повышению уровня мРНК *FCGR3B*.

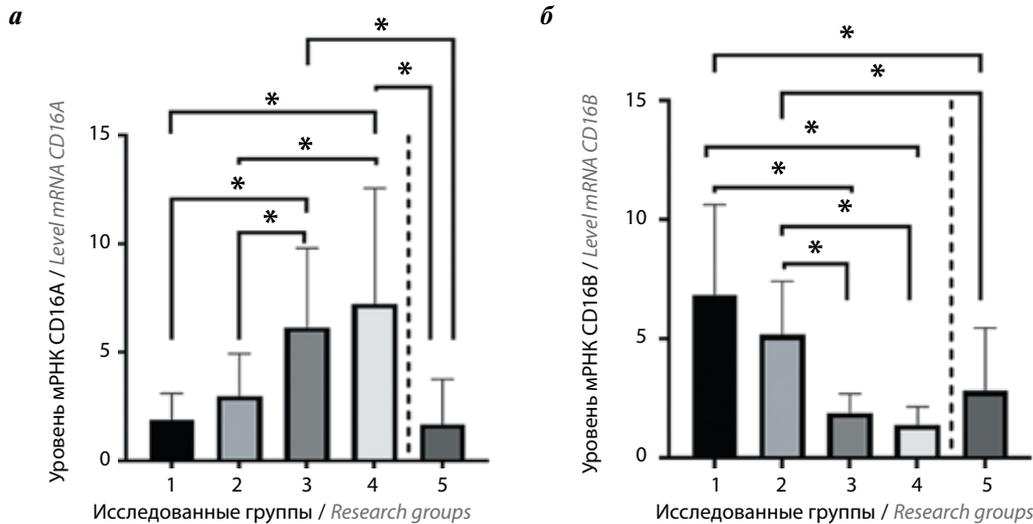
Поскольку для прогнозирования течения РПЖ используют клиническую стадию заболевания, мы оценили уровень мРНК *FCGR3A* и *FCGR3B* у больных с T2- и T3- стадиями по классификации TNM (tumor, nodus, metastasis). Как следует из табл. 2, уровень мРНК *FCGR3A* не различался у больных с T2- и T3- стадиями опухолевого процесса. Тем не менее уровень мРНК *FCGR3B* имел тенденцию к повышению у больных с T3- стадией.

Известно, что плотность, или жесткость, новообразования рассматривается как показатель злокачественности [23]. С помощью соноэластографии мы оценили уровень мРНК тестируемых генов у больных РПЖ с разными коэффициентами жесткости ткани предстательной железы (КЖ<sub>тпж</sub>). Уровень мРНК *FCGR3A* в крови больных РПЖ прогрессивно повышался с повышением КЖ<sub>тпж</sub>. У больных с КЖ<sub>тпж</sub> до 10 Н/м он был в 1,8 раза выше нормы, а у больных с КЖ<sub>тпж</sub> более 30 Н/м – уже в 6,0 раза (рис. 4, а). Была выявлена слабая, но статистически значимая положительная корреляция между уровнем мРНК *FCGR3A* и КЖ<sub>тпж</sub> (рис. 5, а).

В свою очередь, для мРНК *FCGR3B* выявлена обратная картина. При КЖ<sub>тпж</sub> менее 10 Н/м уровень мРНК *FCGR3B* был в 6,4 раза выше нормы ( $p < 0,05$ ), а с повышением КЖ<sub>тпж</sub> он постепенно снижался, и при КЖ<sub>тпж</sub> более 30 Н/м он понижался до уровня нормы (см. рис. 4, б). Корреляционный анализ показал наличие статистически значимой слабой отрицательной корреляционной связи между КЖ<sub>тпж</sub> и уровнем мРНК *FCGR3B* (см. рис. 5, б).

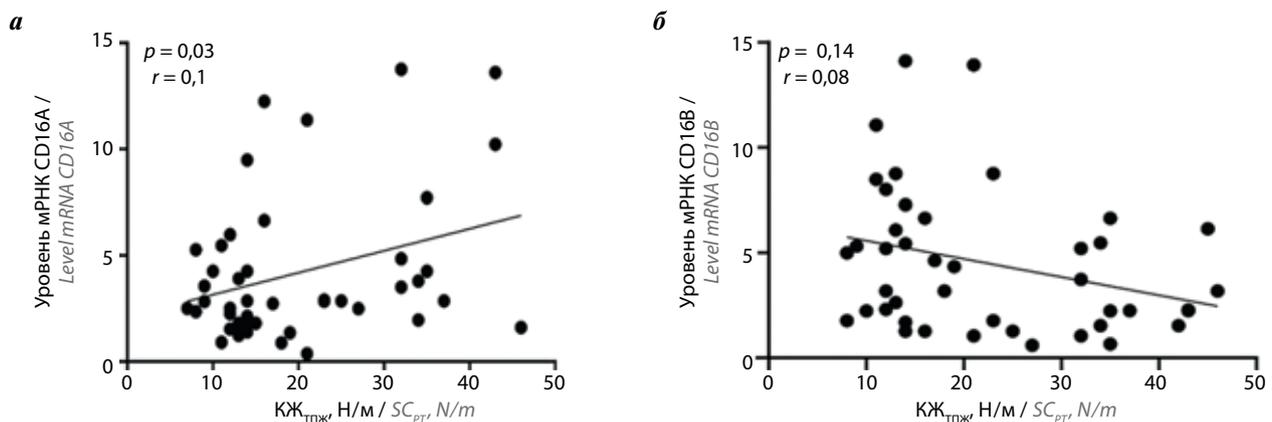
Был оценен уровень мРНК *FCGR3A* и мРНК *FCGR3B* при разной распространенности опухолевого процесса. У больных с локализацией опухоли в одной из долей простаты уровень мРНК тестируемых генов статистически значимо не отличался от уровня у больных с двусторонней локализацией опухолевого процесса (см. табл. 2). В обоих случаях медиана в 2 раза и более превышала норму.

Наличие метастазов в лимфатических узлах больных сопровождалось более высоким уровнем мРНК *FCGR3A*. Он в 4,5 раза превышал норму и был в 2,5 раза выше, чем в крови больных без метастазов ( $p < 0,05$ ). Нормализованный уровень мРНК *FCGR3B* менялся противоположным образом. У больных с метастазами он был в 1,5 раза ниже, чем у больных без метастазов. При этом в обоих случаях уровень мРНК *FCGR3B* был статистически значимо выше нормы.



**Рис. 4.** Уровень мРНК FCGR3A и FCGR3B в периферической крови больных раком предстательной железы при различных значениях коэффициента жесткости ткани предстательной железы ( $KJ_{\text{ТПЖ}}$ ): а – уровень мРНК FCGR3A; б – уровень мРНК FCGR3B; 1 – значение  $KJ_{\text{ТПЖ}}$  составляет до 10 Н/м,  $n = 17$ ; 2 – значение  $KJ_{\text{ТПЖ}}$  находится в пределах от 11 до 20 Н/м,  $n = 14$ ; 3 – значение  $KJ_{\text{ТПЖ}}$  колеблется в пределах от 21 по 30 Н/м,  $n = 7$ ; 4 – значение  $KJ_{\text{ТПЖ}}$  превышает 30 Н/м,  $n = 6$ ; 5 – значение  $KJ_{\text{ТПЖ}}$  здоровых волонтеров,  $n = 30$ ; \*статистически значимые различия между тестируемыми группами и в сравнении со здоровыми волонтерами ( $p < 0,05$ )

**Fig. 4.** The level of FCGR3A and FCGR3B mRNA in the peripheral blood of prostate cancer patients with different values of prostate stiffness coefficient prostate tissue ( $SC_{\text{PT}}$ ): A – FCGR3A mRNA; B – FCGR3B mRNA. 1 –  $SC_{\text{PT}}$  is up to 10 N/m,  $n = 17$ ; 2 –  $SC_{\text{PT}}$  ranges from 11 to 20 N/m,  $n = 14$ ; 3 –  $SC_{\text{PT}}$  ranges from 21 to 30 N/m,  $n = 7$ ; 4 –  $SC_{\text{PT}}$  is more than 30 N/m,  $n = 6$ ; 5 –  $SC_{\text{PT}}$  of healthy volunteers,  $n = 30$ ; \*statistically significant differences between the tested groups and healthy volunteers also ( $p < 0.05$ )



**Рис. 5.** Результаты анализа корреляционных связей между коэффициентом жесткости ткани предстательной железы ( $KJ_{\text{ТПЖ}}$ ) и мРНК FCGR3 в крови больных раком предстательной железы: а –  $KJ_{\text{ТПЖ}}$  и мРНК FCGR3A; б –  $KJ_{\text{ТПЖ}}$  и мРНК FCGR3B

**Fig. 5.** Results of correlation analysis between stiffness coefficient prostate tissue ( $SC_{\text{PT}}$ ) value and FCGR3 mRNA level in the blood of prostate cancer patients: а –  $SC_{\text{PT}}$  value and FCGR3A mRNA level; б –  $SC_{\text{PT}}$  value and FCGR3B mRNA level

Таким образом, уровень мРНК FCGR3A повышается с возрастом, при увеличении концентрации ПСА, объема и жесткости простаты и при наличии метастазов. Различия в концентрации тестостерона, индексе Глисона, стадии заболевания и распространенности опухоли не сопровождалась изменениями в уровне мРНК FCGR3A. Для мРНК FCGR3B выявлен другой характер изменений. С увеличением концентрации ПСА и жесткости простаты повышенный уровень мРНК FCGR3B снижлся, приближаясь

к норме. В отсутствие метастазов он был выше, чем при их наличии. Кроме того, зарегистрированы тенденции к повышению уровня мРНК FCGR3B при увеличении стадии заболевания, концентрации тестостерона до 7 ммоль/л и выше, а также градации индекса Глисона до 7 и более.

### Заключение

В настоящее время прогнозирование течения РПЖ основано на уровне ПСА, клинической стадии,

соотношении нейтрофилов и лимфоцитов и на использовании шкалы Глисона [24]. Нами изучена возможность использования в данных целях показателей, отражающих экспрессию генов *FCGR3A* и *FCGR3B* в клетках крови больных РПЖ. Оценка усредненных уровней мРНК *FCGR3A* и мРНК *FCGR3B* в крови пациентов с РПЖ обнаружила, что в среднем у больных имеется повышенный уровень мРНК данных генов. Повышение зависит от возраста и более выражено у пациентов старше 70 лет. Уровень мРНК *FCGR3A* прямо коррелировал с такими показателями, как содержание ПСА, объем простаты и КЖ<sub>ТПЖ</sub>, и увеличивался с повышением тяжести заболевания.

В свою очередь, для уровня мРНК *FCGR3B* была выявлена противоположная зависимость, проявляющаяся в более высоком его уровне при невысоких концентрациях ПСА и низком КЖ<sub>ТПЖ</sub> и в последующем снижении до нормы с повышением тяжести РПЖ. Иначе говоря, обнаружены разнонаправленные изменения уровня мРНК *FCGR3A* и мРНК *FCGR3B* при разном течении заболевания. Вероятно, выявленный характер изменения уровня мРНК *FCGR3A* и мРНК *FCGR3B* связан с дозозависимым действием ПСА на их уровень. Полученные результаты указывают на возможное мониторинговое значение уровня мРНК *FCGR3A* и мРНК *FCGR3B* в крови больных РПЖ.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Wu J., Mishra H.K., Walcheck B. Role of ADAM17 as a regulatory checkpoint of CD16A in NK cells and as a potential target for cancer immunotherapy. *J Leukoc Biol* 2019;105(6):1297–303. DOI: 10.1002/JLB.2MR1218-501R
2. Golay J., Valgardsdottir R., Musaraj G. et al. Human neutrophils express low levels of FcγRIIA, which plays a role in PMN activation. *Blood* 2019;133(13):1395–405. DOI: 10.1182/blood-2018-07-864538
3. Gillis C., Gouel-Chéron A., Jönsson F., Bruhns P. Contribution of human FcγRs to disease with evidence from human polymorphisms and transgenic animal studies. *Front Immunol* 2014;5:254. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00254
4. Millrud C.R., Kagedal A., Kumlien Georen S. et al. NET-producing CD16<sup>high</sup> CD62L<sup>dim</sup> neutrophils migrate to tumor sites and predict improved survival in patients with HNSCC. *Int J Cancer* 2017;140(11):2557–67. DOI: 10.1002/ijc.30671
5. Lecot P., Sarabi M., Abrantes M.P. et al. Neutrophil heterogeneity in cancer: from biology to therapies. *Front Immunol* 2019;10:2155. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02155
6. Барышников А.Ю., Тоневитский А.Г. Моноклональные антитела в лаборатории и клинике. М.: Медицина, 1997. 212 с. Baryshnikov A.Yu., Tonevitsky A.G. Monoclonal antibodies in the laboratory and clinic. Moscow: Meditsina, 1997. 212 p. (In Russ.).
7. Красногорова Н.В., Новиков Д.В., Фомина С.Г. и др. Уровень мРНК CD16A и CD16B как потенциальный иммунологический маркер при колоректальном раке. *Бюллетень сибирской медицины* 2019;18(1):220–27. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-1-220-227  
Krasnogorova N.V., Novikov D.V., Fomina S.G. et al. The CD16A and CD16B mRNA level as potential immunological marker in colorectal cancer. *Bulleten sibirskoy meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine* 2019;18(1):220–7 (In Russ.). DOI: 10.20538/1682-0363-2019-1-220-227
8. Alyasova A.V., Amoev Z.V., Shkola O.O. et al. Messenger RNA of *FCGR3A* and *FCGR3B* genes as monitoring markers of clear cell renal adenocarcinoma (a pilot study). *Sovrem Tekhnologii Med = Modern Technologies in Medicine* 2022;14(3):22–7. DOI: 10.17691/stm2022.14.3.03
9. Зубеев П.С., Коровин О.А., Севрюков Ф.А., Святозарский Н.Л. Наш опыт применения соноэластографии простаты при заболеваниях предстательной железы. *Андрология и генитальная хирургия* 2013;14(2):60–4. DOI: 10.17650/2070-9781-2013-2-60-64
10. Zubeev P.S., Korovin O.A., Sevryukov F.A., Svyatozarskiy N.L. The experience of using sonoelastography of prostate in prostatic diseases. *Andrologiya y genitalnaya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2013;14(2):60–4 (In Russ.). DOI: 10.17650/2070-9781-2013-2-60-64
10. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-ΔΔCT</sup> method. *Methods* 2001;25(4):402–8. DOI: 10.1006/meth.2001.1262
11. Solana R., Campos C., Pera A., Tarazona R. Shaping of NK cell subsets by aging. *Curr Opin Immunol* 2014;29:56–61. DOI: 10.1016/j.coi.2014.04.002
12. De Maeyer R.P.H., Chambers E.S. The impact of ageing on monocytes and macrophages. *Immunol Lett* 2021;230:1–10. DOI: 10.1016/j.imlet.2020.12.003
13. Gasparoto T.H., Dalboni T.M., Amôr N.G. et al. Fcγ receptors on aging neutrophils. *J Appl Oral Sci* 2021;29:e20200770. DOI: 10.1590/1678-7757-2020-0770
14. Nah E.H., Kim S., Cho S., Cho H.I. Complete blood count reference intervals and patterns of changes across pediatric, adult, and geriatric ages in Korea. *Ann Lab Med* 2018;38(6):503–11. DOI: 10.3343/alm.2018.38.6.503
15. Bonk S., Kluth M., Hube-Magg C. et al. Prognostic and diagnostic role of PSA immunohistochemistry: a tissue microarray study on 21,000 normal and cancerous tissues. *Oncotarget* 2019;10(52):5439–53. DOI: 10.18632/oncotarget.27145
16. Cohen P., Peehl D.M., Lamson G., Rosenfeld R.G. Insulin-like growth factors (IGFs), IGF receptors, and IGF-binding proteins in primary cultures of prostate epithelial cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;73(2):401–7. DOI: 10.1210/jcem-73-2-401
17. Bindukumar B., Schwartz S.A., Nair M.P. et al. Prostate-specific antigen modulates the expression of genes involved in prostate tumor growth. *Neoplasia* 2005;7(3):241–52. DOI: 10.1593/neo.04529
18. Al-Nasralla A.S.H., Hussian 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;Prepress:1–9. DOI: 10.3233/HAB-220018
19. Sciarra F., Campolo F., Franceschini E. et al. Gender-specific impact of sex hormones on the immune system. *Int J Mol Sci* 2023;24(7):6302. DOI: 10.3390/ijms24076302

20. Gagliano-Jucá T., Pencina K.M., Guo W. et al. Differential effects of testosterone on peripheral neutrophils, monocytes and platelets in men: findings from two trials. *Andrology* 2020;8(5):1324–31. DOI: 10.1111/andr.12834
21. Raison N., Servain P., Patel A. et al. Is tumour volume an independent predictor of outcome after radical prostatectomy for high-risk prostate cancer? *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2023;26(2):282–6. DOI: 10.1038/s41391-021-00468-4
22. Ариуа Х., Новиков Д.В., Коровин О.А. и др. Изменения в экспрессии генов, кодирующих молекулы CD16A и CD16B, при доброкачественной гиперплазии предстательной железы. *Имунопатология, аллергология, инфектология* 2023;4:79–84. DOI: 10.14427/jipai.2023.4.79
23. Thörmer G., Reiss-Zimmermann M., Otto J. et al. Novel technique for MR elastography of the prostate using a modified standard endorectal coil as actuator. *J Magn Reson Imaging* 2013;37(6):1480–5. DOI: 10.1002/jmri.23850
24. Wang Y., Dong X., Qu Z. et al. Correlation between peripheral blood neutrophil-lymphocyte ratio and CD34 expression in prostate cancer. *BMC Cancer* 2020;20(1):900. DOI: 10.1186/s12885-020-07382-3

#### Вклад авторов

Д.В. Новиков, А.В. Калугин: получение и анализ результатов;

Х.М. Ариуа, О.А. Коровин: получение данных для анализа;

С.В. Шумилова, А.В. Алясова, Л. Хамидани: анализ данных литературы, написание текста рукописи;

В.В. Новиков: разработка дизайна исследования, написание текста рукописи.

#### Author's contributions

D.V. Novikov, A.V. Kalugin: obtaining and analysis of results;

Kh.M. Arioua, O.A. Korovin: obtaining data for analysis;

S.V. Shumilova, A.V. Alyasova, L. Hamidani: review of publications on the topic of the article, manuscript writing;

V.V. Novikov: research design development, manuscript writing.

#### ORCID авторов / ORCID of authors

Д.В. Новиков / D.V. Novikov: <https://orcid.org/0000-0001-7049-6935>

Х.М. Ариуа / Kh.M. Arioua: <https://orcid.org/0000-0003-1179-2552>

О.А. Коровин / O.A. Korovin: <https://orcid.org/0009-0002-2326-1265>

А.В. Калугин / A.V. Kalugin: <https://orcid.org/0000-0002-5484-5645>

С.В. Шумилова / S.V. Shumilova: <https://orcid.org/0000-0002-2727-2888>

А.В. Алясова / A.V. Alyasova: <https://orcid.org/0000-0003-2621-0359>

Л. Хамидани / L. Hamidani: <https://orcid.org/0009-0005-3459-8770>

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 conducted without sponsorship.

**Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики.** Настоящее исследование проводилось в соответствии с этическими нормами, с письменного информированного согласия пациентов, здоровых добровольцев и выполнялось строго в рамках Хельсинкской декларации по соблюдению прав человека. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ННГУ им. Н.И. Лобачевского.

**Compliance with patient rights and principles of bioethics.** This study was conducted in accordance with ethical standards, with the written informed consent of patients, healthy volunteers and was carried out strictly within the framework of the Helsinki Declaration on Human Rights. The study was approved by the local Ethics Committee of the National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod.

Статья поступила: 08.04.2024. Принята в печать: 21.10.2024. Опубликовано онлайн: \*\* \*\* .2024.

Article received: 08.04.2024. Accepted for publication: 21.10.2024. Published online: \*\* \*\* .2024.