

## КОРРЕКЦИЯ ЛОКАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА И СОСТАВА ТКАНЕВЫХ ЦИТОКИНОВ С ПОМОЩЬЮ ПРЕПАРАТА АНТИТЕЛ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ОБОДОЧНОЙ КИШКИ

Златник Е.Ю.<sup>1</sup>, Симоненко Н.И.<sup>2</sup>, Дженкова Е.А.<sup>1</sup>, Шульгина О.Г.<sup>1</sup>, Максимов А.Ю.<sup>1</sup>, Маслов А.А.<sup>1</sup>, Снежко А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, e-mail: elena-zlatnik@mail.ru;

<sup>2</sup> ГБУ РО «Онкодиспансер» г. Шахты МЗ РО, Каменск-Шахтинский

**Цель:** изучение локальных факторов иммунитета и состава ряда интерлейкинов у больных раком ободочной кишки при проведении предоперационной подготовки с применением лактоглобулина. Больным раком ободочной кишки II–III стадий в предоперационном периоде в курс профилактики гнойно-септических осложнений был включен препарат лактоглобулин – антитела молозива коров, иммунизированных против видов патогенной и условно-патогенной кишечной микрофлоры. У больных основной и контрольной групп при проведении операции, выполненной первым этапом лечения, брали образцы тканей опухоли, перитуморальной зоны и линии резекции, в которых методом проточной цитометрии изучали состав субпопуляций Т-, В-, NK-лимфоцитов (CD3+, CD4+, CD8+, CD19+, CD16+CD56+), иммуноферментным методом – уровни цитокинов (IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-8). Результаты показали более высокие уровни интерлейкинов в опухолях больных обеих групп, чем в неопухолевых образцах. Применение лактоглобулина способствует снижению локального уровня провоспалительных цитокинов в основной группе по сравнению с контрольной: IL-6 во всех исследованных тканях, IL-8 – в образцах опухоли и перитуморальной зоны, IL-1 $\alpha$  – в опухоли и в линии резекции; содержание TNF- $\alpha$  не различалось. В опухолевой ткани по сравнению с перитуморальной зоной и линией резекции было повышено содержание Т-клеток за счет CD4+, а уровни В- и NK-лимфоцитов – снижены. Применение лактоглобулина приводит к повышению уровня Т-лимфоцитов в опухоли за счет CD8+ клеток, содержание которых оказалось выше также в тканях перитуморальной зоны и линии резекции по сравнению с контролем. Последнее представляется важным, поскольку обеспечивает более высокий цитотоксический потенциал ткани, остающейся после операции. Некоторое снижение уровня sIgA в тканях больных основной группы отражает снижение содержания в них В-лимфоцитов. Применение профилактики, включающей лактоглобулин, оказывает позитивное действие на локальный иммунитет больных раком ободочной кишки.

Ключевые слова: рак ободочной кишки, цитокины, лимфоциты, локальный иммунитет, антитела.

## CORRECTION OF LOCAL IMMUNITY AND TISSUE CYTOKINES` PROFILE IN COLON CANCER PATIENTS AFTER APPLICATION OF ANTIBODY-BASED PREPARATION

Zlatnik E.Yu.<sup>1</sup>, Simonenko N.Iv.<sup>2</sup>, Dzhenkova E.A.<sup>1</sup>, Shulgina O.G.<sup>1</sup>, Maksimov A.Y.<sup>1</sup>, Maslov A.A.<sup>1</sup>, Snezhko A.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, e-mail: elena-zlatnik@mail.ru;

<sup>2</sup>GBU RO «Oncological Dispensary» of Shakhty MZ RO, Kamensk-Shakhtinsky

**The purpose of the study:** to study local immunity and cytokine levels after preoperative premedication with colostral antibodies on in colon cancer patients. Lactoglobulin (antibodies of cow colostrum against human pathogenic and potentially pathogenic microbiota) was included in the course of preoperative premedication of colon cancer patients for prophylaxis of purulent-septic complications. In patients of the main (n=40) and control (n=40) groups during the surgery samples of tumor, peritumoral area and resection line tissue were obtained. After disintegration of tissue samples T-, B-, NK-lymphocytes` subsets (CD3+, CD4+, CD8+, CD19+, CD16+CD56+) were studied by flow cytometry and inflammatory cytokines` content (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-8) by ELISA. Results demonstrated that levels of IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-8 in tumor samples in both groups of the patients were higher than in peritumoral area and resection line tissue. Application of lactoglobulin resulted in the decrease of local levels of inflammatory cytokines in patients of the main group compared to the control one: IL-6 decreased in all the tissue samples, IL-8 – in samples of tumor and peritumoral area, IL-1 $\alpha$  – in tumor and resection line tissue, while TNF- $\alpha$  levels were similar. In tumor tissue compared to peritumoral and resection line tissues the per cent of T- and CD4+ lymphocytes were higher while B- and NK- lymphocytes` levels were found to be lower in both groups of the patients. Increase of T- and CD8+ lymphocytes` amount after the application of lactoglobulin

**was noted not only in tumor but also in peritumoral area and resection line tissue; the later seems to be of great importance because of maintaining higher cytotoxic potential in residual tissue after surgery. Some decrease of SIgA in tissue samples of the main group patients is likely to reflect the decrease of B- lymphocytes. The application of prophylaxis including lactoglobulin produces positive effect on local immunity of colon cancer patients.**

---

Keywords: colorectal cancer, cytokines, lymphocytes, local immunity, colostrum antibodies.

Повышение эффективности лечения рака ободочной кишки представляется одной из наиболее актуальных проблем современной онкологии [1]. Поскольку его неотъемлемым этапом является оперативное вмешательство, сохраняется опасность развития воспалительных и гнойно-септических осложнений. При обширных полостных операциях, например на органах брюшной полости, страдают факторы иммунитета, причем не только системные, но и локальные, обеспечивающие местную иммунную защиту слизистых оболочек. Проводимая в таких случаях антибиотикопрофилактика может усиливать иммуносупрессивное действие, что отражается на течении послеоперационного периода. В настоящее время разработаны и применяются в хирургической практике, в частности при операциях по поводу колоректального рака, различные иммуномодуляторы [2, 3]. Представляется перспективным использование для профилактики инфекционных послеоперационных осложнений препаратов антител, среди которых – разработанные на основе иммуноглобулинов молозива и молока лактоглобулины [4]. Для таких препаратов характерны устойчивость к действию протеолитических ферментов, синергическое воздействие на кишечную микрофлору и на местный иммунитет слизистой толстой кишки, вследствие чего они используются для коррекции микробиоты у детей, однако они могут быть применены не только для таких больных. Среди эффектов лактоглобулинов выявлены антитоксический, выраженный как против термолabileных энтеротоксинов, так и против липополисахарида условно-патогенных энтеробактерий, иммуномодулирующий и антиоксидантный, связанные с нормализацией цитокинового баланса и стимуляцией кислородозависимой бактерицидности и функциональной активности нейтрофилов [4]. Изучение возможности и эффективности включения препаратов лактоглобулинов в комплексную предоперационную подготовку больных раком ободочной кишки для нормализации показателей местного иммунитета толстой кишки и снижения частоты развития гнойно-септических осложнений является актуальной задачей.

Целью данной работы явилось изучение факторов локального иммунитета и состава ряда интерлейкинов у больных раком ободочной кишки при проведении предоперационной подготовки с применением лактоглобулина.

**Материалы и методы исследования.** Для предоперационной подготовки применяли препарат лактоглобулин против условно-патогенных микроорганизмов (*Pr. vulgaris*, *Pr. mirabilis*, *Kl. pneumoniae*, *S. aureus*, *Ps. aeruginosa*, энтеропатогенные *E. coli*), разработанный во

ФБУН «Ростовский НИИ микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора. Больные раком ободочной кишки II–III стадии были разделены на 2 группы по 40 больных. В каждой группе преобладали лица женского пола (54 и 57% соответственно), средний возраст составлял  $68 \pm 6,7$  и  $66 \pm 5,3$  года соответственно. Основная группа получала предоперационную иммунопрофилактику указанным препаратом в дозе 2 г 2 раза в день в течение 5 дней; пациентам контрольной группы иммунопрофилактика не проводилась. Все больные давали письменное информированное согласие на участие в исследовании. Всем больным выполнены радикальные оперативные вмешательства; в послеоперационном периоде проводилась стандартная антибиотикотерапия (цефтриаксон 1 г 2 раза в день, метрогил 500 мг 2 раза в день). Для оценки локального клеточного иммунитета и определения количества интерлейкинов при операции брали образцы ткани опухоли (ОП), а также визуально не измененных участков тканей, отступив 1–3 см (перитуморальная зона, ПЗ) и 10 см (линия резекции, ЛР) от края опухоли. Определение концентрации интерлейкинов (IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-8) и фактора некроза опухоли (TNF- $\alpha$ ), проводили в гомогенатах полученных образцов тканей методом ИФА с тест-системами фирмы «Вектор-Бест» (Новосибирск) и выражали в пг/мл с расчетом удельного содержания (на 1 г белка, определяемого биуретовым методом); учет результатов проводили на анализаторе АИФР-01 («УНИПЛАН», Россия) при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620 нм. Уровни лимфоцитарных субпопуляций определяли в гомогенатах тканевых образцов с помощью проточной цитометрии (FACS Canto II, BD, США) с помощью панели T- V- NK, результаты выражали в процентах.

Статистический анализ результатов исследования проводили с использованием программы STATISTICA 13.3 (StatSoft, США). Проверку на нормальность распределения осуществляли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Поскольку полученные данные имели нормальное распределение, количественные показатели представляли в виде среднего (M) и ошибки среднего (m). Для выявления статистической значимости различия средних использовали критерий Стьюдента; результаты считали статистически достоверными при  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования и их обсуждение.** Количество общего белка в исследуемых тканях различалось несущественно, вариабельность данных по этому показателю незначительна. Удельное содержание провоспалительных цитокинов в гомогенатах исследуемых образцов тканей больных основной и контрольной групп представлено в таблице 1.

Таблица 1

Сравнительная характеристика удельного содержания цитокинов в тканях  
аденокарциномы толстой кишки, перитуморальной зоны и линии резекции больных  
основной и контрольной групп

Образцы тканей	Удельное содержание цитокинов (пг/мл/г белка)							
	TNF- $\alpha$		IL-6		IL-8		IL-1 $\alpha$	
	Осн.	Контр.	Осн.	Контр.	Осн.	Контр.	Осн.	Контр.
Опухоль	1,3 $\pm$ 0,3**	1,9 $\pm$ 0,4	6,9 $\pm$ 2,2●	14,2 $\pm$ 1,6**	22,3 $\pm$ 3,3**●	33,0 $\pm$ 2,4**	18,8 $\pm$ 2,8**●	49,7 $\pm$ 11,4**
Перитуморальная зона	0,5 $\pm$ 0,2	0,6 $\pm$ 0,1*	0,8 $\pm$ 0,5*●	4,9 $\pm$ 1,2*	7,7 $\pm$ 1,7*●	17,3 $\pm$ 2,3*	8,77 $\pm$ 1,7*	17,7 $\pm$ 6,1*
Линия резекции	0,5 $\pm$ 0,09*	1,0 $\pm$ 0,3	1,2 $\pm$ 0,5*●	5,2 $\pm$ 1,1*	10,3 $\pm$ 3,0*	13,1 $\pm$ 1,6*	6,7 $\pm$ 1,8*●	19,0 $\pm$ 5,5*

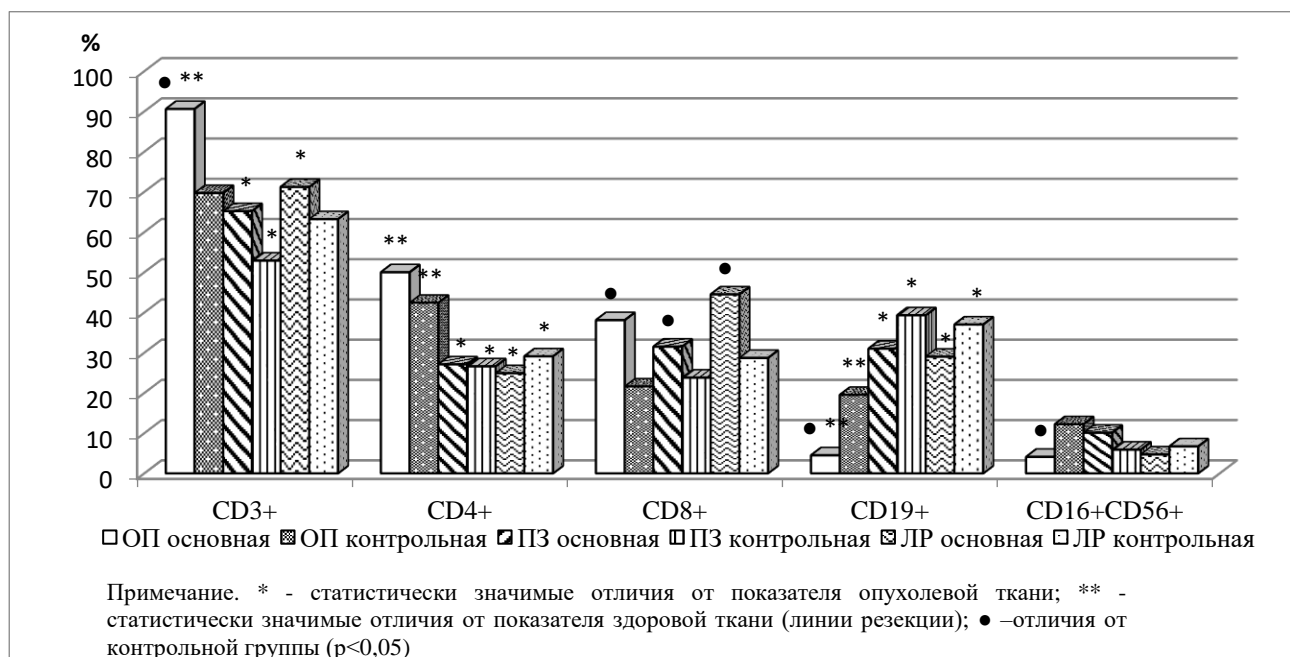
Примечание: \* – статистически достоверные отличия от показателя опухолевой ткани);  
\*\* – отличия от показателя здоровой ткани (линии резекции); ● – отличия от контрольной группы ( $p < 0,05$ ).

Как видно из представленных в таблице 1 данных, содержание исследованных цитокинов в опухоли статистически значимо превышало их уровни в образцах обеих неопухолевых тканей, причем это наблюдалось в обеих сравниваемых группах. Так, у больных контрольной группы содержание всех исследованных цитокинов не различалось между перитуморальной областью и линией резекции, а в ткани опухоли было выше, чем в обеих неопухолевых тканях. У больных основной группы в опухоли также отмечено максимальное содержание исследованных цитокинов по сравнению с перитуморальной зоной и линией резекции.

Сопоставление показателей основной и контрольной групп продемонстрировало, что после применения лактоглобулина в опухоли содержание TNF- $\alpha$  находилось на уровне контрольной группы, а остальных исследованных цитокинов было статистически значимо ниже: IL-6 в 2 раза, IL-8 – в 1,5 раза, IL-1 $\alpha$  – в 2,6 раза ( $p < 0,05$ ). В перитуморальной области у больных основной группы уровни IL-6 и IL-8 были статистически значимо ниже, чем у больных контрольной группы, а в ткани линии резекции были статистически значимо ниже уровни IL-1 $\alpha$  и IL-6 ( $p < 0,05$ ). Особенно выраженные различия в неопухолевых образцах выявлены по уровню IL-6, количество которого в опухолевой ткани больных, получавших лактоглобулин, в тканях перитуморальной зоны и линии резекции было в 6,5 и 4,5 раза соответственно ниже, чем в контрольной группе (во всех случаях  $p < 0,05$ ). Уровни IL-8 были статистически достоверно ниже только в ткани опухоли и перитуморальной зоны, а IL-1 $\alpha$  – в опухоли и линии резекции по сравнению с образцами тканей больных контрольной группы.

Итак, минимальные различия уровней тканевых цитокинов между основной и контрольной группами зарегистрированы по TNF- $\alpha$ , а максимальные – по IL-6.

Процентный состав лимфоцитов основных субпопуляций в образцах тканей больных основной и контрольной групп представлен на рисунке.



*Сравнительная характеристика состава лимфоцитов основных субпопуляций в тканях больных основной и контрольной групп*

Как видно из представленных на рисунке результатов, в ткани опухоли больных контрольной группы общее количество Т-лимфоцитов (CD3+) было статистически значимо выше, чем в тканях перитуморальной области, но не отличалось от показателя линии резекции, составляя  $69,7 \pm 5,4$ ,  $52,9 \pm 5,0$  ( $p < 0,05$ ) и  $63,2 \pm 4,7\%$  соответственно. В отличие от них, в образцах опухолей больных основной группы выявлено накопление Т-лимфоцитов, что выражалось в статистически значимо более высоком их количестве по сравнению с неопухолевыми образцами ( $90,6 \pm 5,5$ ,  $65,2 \pm 6,5$  и  $71,2 \pm 5,6\%$  соответственно, в обоих случаях  $p < 0,05$ ). Кроме того, содержание Т-лимфоцитов в опухолях больных основной группы превышало соответствующие показатели больных контрольной группы ( $90,6 \pm 5,5$  против  $69,7 \pm 5,4\%$ ,  $p < 0,05$ ). Количество CD4+ лимфоцитов в опухолях больных обеих групп было статистически значимо выше, чем в перитуморальной зоне и линии резекции:  $50,0 \pm 4,9$ ,  $27,1 \pm 5,2$  и  $24,9 \pm 4,7\%$  в основной и  $42,4 \pm 4,2$ ,  $26,6 \pm 2,9$  и  $29,1 \pm 4,0\%$  в контрольной (в обоих случаях  $p < 0,05$ ), а статистически значимых различий между показателями всех тканевых образцов больных основной и контрольной групп не обнаружено.

При исследовании уровней CD8+ клеток в образцах тканей больных основной группы установлено, что они были статистически значимо выше, чем в соответствующих контрольных, на 22–54%, составляя в основной группе  $38,1 \pm 6,4\%$  в опухоли,  $31,5 \pm 2,5$  в перитуморальной области и  $44,5 \pm 6,1\%$  в линии резекции против  $21,6 \pm 3,5$ ,  $23,8 \pm 2,2$  и  $28,7 \pm 2,8\%$

в контрольной соответственно; во всех случаях  $p < 0,05$ . По данному параметру обнаружены только межгрупповые различия, а между тканью опухоли, перитуморальной зоны и линии резекции не наблюдалось статистически значимых различий ни в основной, ни в контрольной группе.

Отмечен низкий уровень натуральных киллеров в образцах ткани опухоли больных основной группы, который является минимальным ( $4,1 \pm 1,1\%$ ) как среди других исследованных тканевых образцов, хотя и не отличаясь от них статистически значимо ( $10,1 \pm 3,4\%$  в перитуморальной зоне и  $4,7 \pm 1,9\%$  в линии резекции), так и по сравнению с тканью опухолей больных контрольной группы –  $12,2 \pm 2,5\%$ ; в последнем случае отличие статистически значимо ( $p < 0,05$ ). По-видимому, это связано с отмеченным выше выраженным преобладанием Т-лимфоцитов в опухолях больных основной группы. В ткани перитуморальной зоны и линии резекции различий между показателями основной и контрольной групп не наблюдается.

В ткани опухоли больных основной группы отмечается более низкое процентное содержание В-лимфоцитов по сравнению с контрольной:  $4,5 \pm 1,2$  против  $19,5 \pm 2,8\%$  ( $p < 0,05$ ), что мы также связываем с высоким содержанием в опухоли Т-клеток. В опухолевой ткани как контрольной, так и основной групп выявлено более низкое содержание В-лимфоцитов по сравнению с неопухолевыми тканями. В неопухолевых тканях таких различий не наблюдается: в перитуморальной зоне уровень CD19+ клеток составляет  $31,0 \pm 7,3$  в основной и  $39,3 \pm 5,0\%$  в контрольной группе; в ткани линии резекции –  $29,0 \pm 4,8$  и  $37,0 \pm 4,4\%$  соответственно, что является характерным для толстой кишки, богатой клетками-эффекторами гуморального иммунитета [5]. Основной функцией этих клеток является продукция секреторного IgA (SIgA), обеспечивающего антимикробную защиту слизистой кишечника. Результаты определения содержания SIgA в гомогенате исследованных образцов тканей, взятых у больных основной и контрольной групп, представлены в таблице 2, из которой видно, что в образцах опухоли больных основной группы его уровень статистически достоверно ниже, чем в контрольной группе, а соответствующих различий в образцах перитуморальной зоны и линии резекции не отмечено.

Таблица 2

Сравнительная характеристика локальной продукции SIgA в тканях больных основной и контрольной групп (мг/л)

Группы больных	Опухоль	Перитуморальная зона	Линия резекции
Основная	$26,1 \pm 2,0^*$	$31,1 \pm 2,2$	$26,6 \pm 2,3$
Контрольная	$33,5 \pm 3,0$	$34,0 \pm 1,7$	$30,3 \pm 2,9$

Примечание: \* – статистически значимые отличия от контроля ( $p < 0,05$ ).

Возможно, снижение уровня SIgA происходит благодаря описанному выше снижению тканевого содержания IL-6, который является стимулятором его продукции и секреции [6], и объяснимо подавлением не только его продуцентов (В-лимфоцитов), но и стимулятора. Однако снижение уровня SIgA оказалось менее выраженным по сравнению со снижением как CD19+ клеток, так и IL-6. Несмотря на низкое содержание В-лимфоцитов в опухолевой ткани больных основной группы, их функция представляется достаточно сохранной, а возможно, и компенсаторно повышенной.

Таким образом, применение лактоглобулина вызывает благоприятные изменения в лимфоцитарном и цитокиновом составе тканей ободочной кишки, демонстрируя противовоспалительный эффект при применении в предоперационном периоде. Несмотря на однонаправленность различий между показателями основной и контрольной групп, они не являются одинаковыми. Статистически значимые различия зарегистрированы по IL-1 $\alpha$ , IL-8 и IL-6. Последний считается фактором пролиферации и распространения опухоли [7, 8], поэтому снижение его тканевого содержания при применении лактоглобулина не только в удаляемой опухоли, но и в остающейся после операции ткани линии резекции может характеризовать ее состояние как более благоприятное по сравнению с тканью больных контрольной группы. Об этом же говорит и преобладание тканевого содержания Т-лимфоцитов за счет цитотоксических (CD8+) во всех тканевых образцах больных, получавших лактоглобулин, среди которых представляется особенно важной сохранность этих клеток в ткани линии резекции.

В литературе неоднократно описана значимость иммунологического микроокружения опухоли для обеспечения эффекта как иммунотерапии (в частности, ингибиторами иммунных контрольных точек), так и химиотерапии [9, 10, 11]. Авторы придают важное прогностическое значение локально присутствующим Т- и NK-клеткам [9, 12, 13], а также показателю *immunoscore*, характеризующему количество опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов, причем предпочтение отдается Т-клеткам адаптивного иммунитета (CD8+) [14-17], повышение локального уровня которых после применения антительного препарата – лактоглобулина – показано в данной работе.

**Заключение.** Таким образом, нами установлено, что предоперационное применение препарата лактоглобулина у больных раком ободочной кишки приводит к ряду количественных изменений факторов локального иммунитета по сравнению с больными, получавшими стандартную антибиотикопрофилактику. Среди этих изменений представляются особенно благоприятными снижение содержания IL-6 в ткани линии резекции наряду с повышением в ней количества CD8+ Т-лимфоцитов, что предполагает усиление

антипролиферативного потенциала ткани, остающейся в организме больного после оперативного вмешательства.

### Список литературы

1. Siegel R.L., Miller K.D., Goding S.A., Fedewa S.A., Butterly L.F., Anderson J.C., Cercek A., Smith R.A., Jemal A. Colorectal cancer statistics, 2020 // *A Cancer Journal for Clinicians*. 2020. Vol. 70, Is. 3. P. 145-164. DOI: 10.3322/caac.21601
2. Кит О.И., Кириченко Е.Ю., Новикова И.А., Максимов А.Ю., Филиппова С.Ю., Гранкина А.О., Златник Е.Ю. Иммуноterapia колоректального рака: современное состояние и перспективы (обзор) // *Современные медицинские технологии*. 2017. Т. 9, №3. С.138-150.
3. Кит О.И., Набатова О.С., Златник Е.Ю., Павленко С.Г., Нистратова О.В. Динамика некоторых показателей клеточного иммунитета у больных колоректальным раком в комплексном лечении иммуномодуляторами и антиоксидантами // *Фундаментальные исследования*. 2014. №7-2. С. 286-289.
4. Алешукина А.В. Отношения микроб-хозяин в биотопах толстой кишки при дисбактериозах: дис. ... докт. мед. наук. Москва, 2012. 50 с.
5. Spencer J., Sollid L.M. The human intestinal B-cell response // *Mucosal Immunology*. 2016. Vol. 9, Is. 5. P.1113-24. DOI: 10.1038/mi.2016.59.
6. Kawashima T., Ikari N., Kouchi T., Kowatari Y., Kubota Y., Shimojo N., Tsuji N.M. The molecular mechanism for activating IgA production by *Pediococcus acidilactici* K15 and the clinical impact in a randomized trial // *Scientific Reports*. 2018. Vol. 22, Is. 8(1). P. 5065. DOI: 10.1038/s41598-018-23404-4.
7. Бережная Н.М., Чехун В.Ф. Иммунология злокачественного роста. К.: Наукова думка, 2005. 792 с.
8. Waldner M.J., Foersch S., Neurath M.F. Interleukin-6--a key regulator of colorectal cancer development // *International Journal of Biological Sciences*. 2012. Vol. 8, Is. 9. P. 1248-53. DOI: 10.7150/ijbs.461.
9. Donadon M., Hudspeth K., Cimino M., Di Tommaso L., Preti M., Tentorio P., Roncalli M., Mavilio D., Torzilli G. Increased Infiltration of Natural Killer and T Cells in Colorectal Liver Metastases Improves Patient Overall Survival // *Journal of Gastrointestinal Surgery*. 2017. Vol. 21, Is. 8. P. 1226-1236. DOI: 10.1007/s11605-017-3446-6.
10. Tanis E., Julié C., Emile J.F., Mauer M., Nordlinger B., Aust D., Roth A., Lutz M.P., Gruenberger T., Wrba F., Sorbye H., Bechstein W., Schlag P., Fisseler A., Ruers T. Prognostic impact of immune response in resectable colorectal liver metastases treated by surgery alone or surgery with



perioperative FOLFOX in the randomised EORTC study 40983 // *European Journal of Cancer*. 2015. Vol. 51, Is. 17. P. 2708-17. DOI: 10.1016/j.ejca.2015.08.014.

11. Tintelnot J., Stein A. Immunotherapy in colorectal cancer: Available clinical evidence, challenges and novel approaches // *World Journal of Gastroenterology*. 2019. Vol. 7, Is. 25(29). P. 3920-3928. DOI: 10.3748/wjg.v25.i29.3920.

12. Maker A.V., Ito H., Mo Q., Weisenberg E., Qin L.X., Turcotte S., Maithel S., Shia J., Blumgart L., Fong Y., Jarnagin W.R., DeMatteo R.P., D'Angelica M.I. Genetic evidence that intratumoral T-cell proliferation and activation are associated with recurrence and survival in patients with resected colorectal liver metastases // *Cancer Immunology Research*. 2015. Vol. 3, Is. 4. P. 380-8. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-14-0212.

13. Nakagawa K, Tanaka K, Homma Y, Nojiri K, Kumamoto T, Takeda K, Endo I. Low infiltration of peritumoral regulatory T cells predicts worse outcome following resection of colorectal liver metastases // *Ann. Surg. Oncol*. 2015. Vol. 22, Is. 1. P. 180-6. DOI: 10.1245/s10434-014-3974-1.

14. Сагакянц А.Б. Объединенный иммунологический форум: современные направления развития фундаментальной и прикладной онкоиммунологии (Новосибирск, 2019) // *Южно-Российский онкологический журнал*. 2020. Т.1, №2. С. 36-45. DOI: 10.37748/2687-0533-2020-1-2-5.

15. Galon J., Hermitte F., Mlecnik B., Marliot F., Bifulco C.B., Lugli A., Nagtegaal I.D., Hartmann A., Eynde M.V., Roehrl M.H., Ohashi P.S., Zavadova E., Torigoe T., Patel P., Wang Y., Kawakami Y., Marincola F.M., Ascierto P.A., Fox B.A., Pagès F. Immunoscore clinical utility to identify good prognostic colon cancer stage II patients with high-risk clinico-pathological features for whom adjuvant treatment may be avoided // *Journal of Clinical Oncology*. 2019. Vol. 37, Is. 4. P. 487. DOI: 10.1200/JCO.2019.37.4\_suppl.487.

16. Mlecnik B., Bifulco C., Bindea G., Marliot F., Lugli A., Lee J.J., Zlobec I., Rau T.T., Berger M.D., Nagtegaal I.D., Vink-Börger E., Hartmann A., Geppert C., Kolwelter J., Merkel S., Grützmann R., Van den Eynde M., Jouret-Mourin A., Kartheuser A., Léonard D., Remue C., Wang J.Y., Bavi P., Roehrl M.H.A., Ohashi P.S., Nguyen L.T., Han S., MacGregor H.L., Hafezi-Bakhtiari S., Wouters B.G., Masucci G.V., Andersson E.K., Zavadova E., Vocka M., Spacek J., Petruzela L., Konopasek B., Dunder P., Skalova H., Nemejcova K., Botti G., Tatangelo F., Delrio P., Ciliberto G., Maio M., Laghi L., Grizzi F., Fredriksen T., Buttard B., Lafontaine L., Bruni D., Lanzi A., El Sissy C., Haicheur N., Kirilovsky A., Berger A., Lagorce C., Paustian C., Ballesteros-Merino C., Dijkstra J., van de Water C., van Lent-van Vliet S., Knijn N., Muşină A.M., Scripcariu D.V., Popivanova B., Xu M., Fujita T., Hazama S., Suzuki N., Nagano H., Okuno K., Torigoe T., Sato N., Furuhashi T., Takemasa I., Itoh K., Patel P.S., Vora H.H., Shah B., Patel J.B., Rajvik K.N., Pandya S.J., Shukla S.N., Wang

Y., Zhang G., Kawakami Y., Marincola F.M., Ascierto P.A., Fox B.A., Pagès F., Galon J. Multicenter International Society for Immunotherapy of Cancer Study of the Consensus Immunoscore for the Prediction of Survival and Response to Chemotherapy in Stage III Colon Cancer // *Journal of Clinical Oncology*. 2020. Vol. 38, Is. 31. P. 3638-3651. DOI: 10.1200/JCO.19.03205.

17. Pagès F., André T., Taieb J., Vernerey D., Henriques J., Borg C., Marliot F., Ben Jannet R., Louvet C., Mineur L., Bennouna J., Desrame J., Faroux R., Kirilovsky A., Duval A., Laurent-Puig P., Svrcek M., Hermitte F., Catteau A., Galon J., Emile J.F. Prognostic and predictive value of the Immunoscore in stage III colon cancer patients treated with oxaliplatin in the prospective IDEA France PRODIGE-GERCOR cohort study // *Annals of Oncology*. 2020. Vol. 31, Is. 7. P. 921-929. DOI: 10.1016/j.annonc.2020.03.310.