

Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Сибирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Рейнгардт Глеб Вадимович

**ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА *LGALS1* И ОСОБЕННОСТИ
ИММУНОРЕГУЛЯТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ ГАЛЕКТИНА-1
ПРИ РАКЕ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА**

3.3.3. Патологическая физиология

1.5.22. Клеточная биология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:

д-р мед. наук, профессор
Ю.В. Колобовникова

д-р мед. наук, профессор,
член-корреспондент РАН
О.И. Уразова

Томск – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ		5
Глава 1.	ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	14
1.1	Этиология и факторы риска рака толстого кишечника	14
1.2	Патогенез рака толстого кишечника	17
1.3	Галектины – молекулы межклеточной коммуникации	21
1.4	Роль галектина-1 в канцерогенезе	24
1.5	Иммуносупрессивная роль галектина-1 в опухолевом микроокружении	27
1.6	Модуляция эффектов галектинов с помощью ингибиторов	30
Глава 2.	МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	37
2.1	Клиническая характеристика обследованных пациентов	37
2.2	Материал исследования	41
2.3	Методы исследования	42
2.3.1	Оценка экспрессии галектина-1 в опухолевой ткани толстого кишечника	42
2.3.2	Определение концентрации галектина-1 плазме крови	43
2.3.3	Выделение мононуклеарных лейкоцитов из цельной крови с последующим культивированием в питательной среде	45
2.3.4	Сокультивирование клеточной линии COLO 201 с мононуклеарными лейкоцитами периферической крови	46
2.3.5	Определение концентрации цитокинов IFN γ , IL-17A и TGF β 1 в супернатантах сокультуры клеточной линии COLO 201 с мононуклеарными лейкоцитами периферической крови	47
2.3.6	Определение уровня мРНК генов транскрипционных факторов T-bet, RORC2 и FoxP3 в мононуклеарных лейкоцитах	47

	периферической крови	
2.3.7	Оценка полиморфизма гена галектина-1	48
2.3.8	Статистический анализ результатов	50
Глава 3.	РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	52
3.1	Внутриопухолевая экспрессия и плазменная концентрация галектина-1 при раке и аденомах толстого кишечника	52
3.2	Плазменная концентрация и опухолевая экспрессия галектина-1 у больных раком толстого кишечника во взаимосвязи с клинико-морфологическими параметрами опухолевого процесса	53
3.3	Ассоциация клинико-морфологических параметров опухолевого процесса с носительством полиморфных вариантов <i>rs4820293</i> и <i>rs4820294</i> гена галектина-1 у больных раком толстого кишечника	56
3.4	Взаимосвязь плазменной и опухолевой экспрессии галектина-1 с генотипами полиморфных вариантов гена <i>LGALS1</i> у больных раком толстого кишечника	58
3.5	Влияние галектина-1 на экспрессию генов транскрипционных факторов T-bet, RORC2 и FoxP3 в условиях сокультивирования мононуклеарных лейкоцитов с клетками аденокарциномы толстого кишечника линии COLO 201 у больных раком толстого кишечника	60
3.6	Влияние галектина-1 на секрецию IFN γ , IL-17A и TGF β 1 в сокультуре мононуклеарных лейкоцитов с клетками аденокарциномы толстого кишечника линии COLO 201 у больных раком толстого кишечника	63
Глава 4.	ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	66
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	81

ВЫВОДЫ	83
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	85
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	87

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Рак толстого кишечника занимает лидирующие позиции среди злокачественных новообразований в Российской Федерации и мире [Каприн А.Д. и соавт., 2025; Siegel R.L. et al., 2024]. Значимую роль в патогенезе рака толстого кишечника играет нарушение Т-клеточного противоопухолевого иммунного ответа, обусловленное дисбалансом между эффекторными и регуляторными Т-лимфоцитами, в том числе в связи с синтезом опухолью галектинов [Cedeno-Laurent F. et al., 2012; Chou F.C. et al., 2018]. Галектины, будучи представителями семейства галактозид-связывающих белков, обладают широким спектром вне- и внутриклеточных функций [Cummings R.D. et al., 2022].

Согласно литературным данным, галектин (Gal)-1 вовлечен в ключевые этапы канцерогенеза, такие как инвазия, неоангиогенез, метастазирование, а также модуляцию иммунного микроокружения опухоли [Martinez-Bosch N. et al., 2014; Wu R. et al., 2018; Girotti M.R. et al., 2020]. Эффекты галектина-1 могут быть как прямыми – за счет взаимодействия его CRD-домена с гликанами клеточной мембраны, так и опосредованным, как в случае активации опухолевого неоангиогенеза [Schulkens I. A. et al., 2013]. Помимо прочего галектин-1 участвует в регуляции иммунного микроокружения опухоли. Исследования *in vivo* и *in vitro* демонстрируют, что данный лектин способен модулировать Т-клеточный иммунный ответ. Как сообщают F. Kovács-Sólyom с коллегами, галектин-1 угнетает активность и пролиферацию Th1-лимфоцитов, а также вызывает апоптоз опухолеспецифических CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов [Kovács-Sólyom F. et al., 2010]. Кроме этого, галектин-1 способен активировать функции Т-регуляторных лимфоцитов (Treg). Gal-1, экспрессируемый опухолевыми клетками, усиливает секрецию интерлейкина (IL)-10 Тreg-лимфоцитами [Garín M.I. et al., 2007]. Продемонстрировано, что делеция гена галектина-1 коррелирует с уменьшением инфильтрации опухоли Т-регуляторными лимфоцитами (Treg), что, в свою очередь, ассоциировано с уменьшением как размеров первичной опухоли, так и ее

метастатического потенциала [Dalotto-Moreno T. et al., 2013].

Для многих злокачественных новообразований характерна гиперпродукция галектина-1 опухолевыми клетками [Кушлинский Н.Е. и соавт., 2024; Holst J.M. et al., 2020]. Гиперэкспрессия галектина-1 при раке предстательной железы, меланоме, опухолях яичников и ряде других локализаций ассоциирована, как правило, с более агрессивным течением опухолевого процесса и низкой выживаемостью больных [Thijssen V.L. et al., 2015; Griffiths A. et al., 2025]. Опухоль-ассоциированная продукция галектина-1 является одной из стратегий подавления противоопухолевого иммунитета, реализуемой злокачественными клетками [Cedeno-Laurent F. et al., 2012; Ito K. et al., 2012; Astorgues-Xerri L. et al., 2014].

Поскольку галектины секретируются, их содержание в крови может быть использовано в качестве биомаркера для диагностики и прогнозирования злокачественных новообразований. Показано, что уровень Gal-1 в сыворотке крови у пациентов с раком легких выше, чем у здоровых субъектов; повышенной является также экспрессия мРНК галектина-1 в опухоли по сравнению с неопухолевыми клетками [Кюо Р.Л. et al., 2011]. Наличие в крови антител к галектину-1 оказалось полезным биомаркером, отражающим его экспрессию в тканях при гепатоцеллюлярной карциноме [Nanami T. et al., 2021]. Тем не менее при колоректальном раке сведения об уровне экспрессии галектина-1 опухолевыми клетками, о его клинико-диагностической значимости и влиянии на канцерогенез остаются противоречивыми [Barrow H. et al., 2011].

Следует отметить, что в литературе практически не представлены данные о роли полиморфизма генов галектинов в патогенезе опухолевого процесса. Известно, что полиморфный вариант rs4820293 гена галектина-1 играет значимую роль в развитии миастении гравис [Pál Z. et al., 2010], а гаплотип GG rs4820294/rs2899292 ассоциирован с повышенной устойчивостью человека к вирусу гриппа H7N9 [Chen Y. et al., 2015]. В свою очередь, полиморфизм rs4644 гена галектина-3 ассоциирован с активной пролиферацией злокачественно трансформированных клеток рака желудка и повышением их резистентности к

химиотерапии [Kim S. et al., 2011], а также с устойчивостью к апоптозу опухолевых клеток при раке молочной железы [Balan V. et al., 2008].

Понимание роли Gal-1 в патогенезе прогрессии опухолевого процесса и развитии паранеопластического иммунодефицита при колоректальном раке поможет обосновать возможность использования данного лектина в качестве прогностического маркера течения опухолевого процесса.

Степень разработанности темы. В научных публикациях представлен значительный массив данных о галектинах, включая Gal-1 и его физиологические функции, роль данного белка при патологии [Godula K. et al., 2018; Cummings R.D. et al., 2022]. Подробно описаны представители семейства β -галактозид-связывающих белков и механизмы их взаимодействия с внутри- и внеклеточными молекулярными мишенями, экспрессия в различных органах, тканях и клетках организма. Охарактеризованы эффекты галектина-1 в качестве регулятора клеточной адгезии и пролиферации, апоптоза иммунных клеток, воспаления, синтеза цитокинов и др. [Rabinovich G.A. et al., 2002; Rabinovich G.A., Liu F.T. et al., 2007; Vladoiu M.C. et al., 2015; Chan Y.C. et al., 2018]. Рядом авторов отмечено, что галектин-1 выступает в роли одного из ключевых факторов канцерогенеза и опухолевой прогрессии, сообщается о его способности стимулировать пролиферацию опухолевых клонов путем активации различных внутриклеточных сигнальных путей [Michael J.V. et al., 2016; Girotti M.R. et al., 2020].

Участие галектина-1 в регуляции противоопухолевого иммунитета является предметом активных дискуссий в научном сообществе, в том числе при аденокарциноме толстого кишечника [Toscano M.A. et al., 2007; Barrow H. et al., 2011; Cedeno-Laurent F. et al., 2012; Ito K. et al., 2012; Dalotto-Moreno T. et al., 2013; Astorgues-Xerri L. et al., 2014; Ling L. et al., 2015; Doulabi H. et al., 2018; Полетика В.С. и соавт., 2020]. Так, блокада эффектов галектина-1 *in vitro* вызывает уменьшение иммуносупрессивной активности Т-регуляторных клеток [Garín M.I. et al., 2007], а ингибирование Gal-1 с помощью GB1908 приводит к снижению числа секретируемых цитокинов (IL-17A, интерферона (IFN) γ , фактора некроза опухоли (TNF) α) Т-лимфоцитами человека и мыши [Herman K.D. et al., 2024]. Кроме того,

продукция галектина-1 связана с иммуносупрессией при ряде других злокачественных новообразований [Rubinstein N. et al., 2004; Juszczynski P. et al., 2007]. Тем не менее, вопросы относительно селективного влияния галектина-1 на состояние протективных механизмов при раке толстого кишечника все еще остаются малоизученными.

Цель исследования: определить связь полиморфизма гена *LGALS1* галектина-1 с развитием опухоли и особенности галектин-1-опосредованных нарушений дифференцировки и цитокинсекреторной активности регуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов у больных раком толстого кишечника.

Задачи исследования:

1. Исследовать аллельный полиморфизм промоторной области гена галектина-1 (rs4820293 и rs4820294) во взаимосвязи с содержанием галектина-1 в опухоли и периферической крови у больных раком толстого кишечника.
2. Провести анализ ассоциаций аллельного полиморфизма гена галектина-1 (rs4820293 и rs4820294) с риском развития рака толстого кишечника и клинико-морфологическими параметрами опухолевого процесса (степень инвазии и дифференцировки опухоли, наличие регионарных и отдаленных метастазов).
3. Определить *in vitro* влияние галектина-1 на уровень экспрессии м-РНК транскрипционных факторов дифференцировки CD4⁺ Т-лимфоцитов Tbet, RORC2, FoxP3 и секрецию цитокинов IFN γ , IL-17A, TGF β 1 Т-лимфоцитами при сокультивировании мононуклеарных лейкоцитов больных раком толстого кишечника с клетками аденокарциномы толстого кишечника линии COLO 201.

Научная новизна. Получены новые фундаментальные данные об ассоциации полиморфного варианта rs4820294 гена галектина-1 с клинико-морфологическими параметрами рака толстого кишечника (с наличием регионарных метастазов и степенью дифференцировки опухоли) при отсутствии связи носительства полиморфизма гена *LGALS1* (обоих его вариантов – rs4820293 и rs4820294) с риском развития заболевания. Показана связь содержания галектина-1 в опухоли и крови пациентов со стадией заболевания и его повышение при прогрессировании опухолевого процесса. При этом ассоциации полиморфизма гена *LGALS1* с

содержанием галектин-1-позитивных опухолевых клеток при раке толстого кишечника не установлено. Определено прямое поляризирующее *in vitro* влияние галектина-1 на дифференцировку и функциональную активность регуляторных Т-лимфоцитов-хелперов Th1, Th17 и Treg у больных раком толстого кишечника и здоровых добровольцев с использованием двукамерной системы сокультивирования клеток аденокарциномы толстого кишечника линии COLO 201 и мононуклеарных лейкоцитов без добавления и с добавлением селективного Gal-1-ингибитора ОТХ008. По изменению содержания мРНК транскрипционных факторов и цитокин-секреторной активности основных субпопуляций регуляторных Т-лимфоцитов определено иммуносупрессивное влияние галектина-1. Его эффекты оказались равнонаправленными как у больных раком толстого кишечника, так и у здоровых добровольцев – увеличение относительного содержания мРНК транскрипционного фактора дифференцировки FoxP3 (маркерного для иммуносупрессивных Treg) и снижение экспрессии транскрипционных факторов T-bet и RORC2, ответственных за дифференцировку «наивных» CD4⁺ Т-хелперов в Th1- и Th17-лимфоциты соответственно. При этом определялись признаки гиперфункции Treg – увеличение секреции TGFβ1 на фоне снижения функциональной активности клеток типа Th1 и Th17 (гипосекреция IFNγ и IL-17A). Впервые с помощью ингибитора галектина-1 ОТХ008 продемонстрирована обратимость Gal-1-опосредованных иммуносупрессивных эффектов на субпопуляционный состав и цитокин-секреторную активность Th1, Th17 и Treg лимфоцитов.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные результаты углубляют представления о биологической роли галектинов в канцерогенезе и иммунопатологии колоректального рака. Отсутствие ассоциации между полиморфизмом гена *LGALS1* и развитием рака толстого кишечника при наличии его связи с клинико-морфологическими показателями опухолевой прогрессии позволяет предположить эпигенетический механизм регуляции экспрессии белка клетками опухоли, которая, как показали полученные результаты, может влиять на течение болезни и служить показателем

неблагоприятного прогноза. Экспериментально подтверждено прямое воздействие галектина-1 на регуляцию иммунной системы, включая изменение состава регуляторных Т-клеточных субпопуляций и подавление функциональных свойств эффекторных Т-хелперов с противоопухолевой активностью, что свидетельствует о влиянии белковых медиаторов на формирование специфического микроокружения опухоли. Это определяет перспективы дальнейших исследований в области иммунотерапии злокачественных новообразований толстого кишечника. Впервые продемонстрированная в работе способность путем селективного подавления эффектов галектина-1 восстанавливать нарушенные механизмы регуляции иммунитета открывает новые горизонты к разработке лекарственных средств направленного действия против прогрессирующего роста опухоли посредством блокады иммуносупрессивного воздействия галектинов. Полученные знания создают научную основу для дальнейшего изучения возможностей таргетной терапии колоректального рака с целью повышения эффективности лечения и улучшения качества жизни пациентов.

Результаты проведенного исследования внедрены в учебный процесс кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России в тематические разделы «Патофизиология клетки», «Роль иммунной системы в патологии», «Патофизиология тканевого роста» и «Изменение количественного и качественного состава лейкоцитов» дисциплины «Патофизиология, клиническая патофизиология» на врачебных факультетах для специальностей 31.05.01 Лечебное дело и 31.05.02 Педиатрия.

Методология и методы исследования. Для решения поставленных задач обследованы пациенты с диагнозом рака толстого кишечника (МКБ-10: C18-C20). Материалом для исследования послужили: фрагменты толстой кишки, полученные при хирургическом вмешательстве; цельная периферическая кровь; супернатанты культуры мононуклеарных лейкоцитов, выделенных из крови пациентов с раком толстого кишечника и здоровых доноров, с добавлением клеток аденокарциномы толстого кишечника линии COLO 201. Экспрессия галектина-1 в ткани опухоли оценивалась методом иммуногистохимии. Концентрация галектина-1 в плазме

периферической крови и цитокинов в сокультуре мононуклеарных лейкоцитов с опухолевыми клетками линии COLO 201 определялась методом иммуноферментного анализа. Экспрессию генов транскрипционных факторов в сокультуре определяли по содержанию мРНК в мононуклеарах с помощью ПЦР в режиме реального времени. Оценку полиморфизма гена галектина-1 *LGALS1* проводили с помощью анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ).

Исследования выполнены в научно-образовательной лаборатории молекулярной медицины на базе кафедры патофизиологии (заведующий кафедрой – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН О.И. Уразова), Центральной научно-исследовательской лаборатории (руководитель – д-р мед. наук, профессор РАН Е.В. Удут) ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, отделении клинко-диагностической лаборатории (заведующий – д-р мед. наук А. И. Дмитриева) и патологоанатомическом отделении (заведующий – Л.Э. Ерендеева) ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер» («ТООД») (главный врач – канд. мед. наук, доцент М.Ю. Грищенко).

Положения, выносимые на защиту:

1. При раке толстого кишечника полиморфизм гена *LGALS1* не влияет на экспрессию галектина-1 в опухоли и содержание галектина-1 в периферической крови. Содержание галектина-1 в опухоли и крови зависит от стадии заболевания и значительно выше при наличии признаков опухолевой прогрессии – высокой степени инвазии первичной опухоли, ее регионарном и отдаленном метастазировании, чем при низкой степени инвазии опухоли и отсутствии метастазов.
2. Носительство полиморфных вариантов rs4820293 и rs4820294 гена *LGALS1* не предрасполагает к развитию рака толстого кишечника. При этом наличие полиморфизма rs4820294 гена *LGALS1* у больных колоректальным раком ассоциировано с развитием регионарных метастазов и степенью дифференцировки опухоли.
3. Прямое иммуносупрессивное влияние опухолевого галектина-1

подтверждается снижением экспрессии транскрипционных факторов дифференцировки хелперных Т-лимфоцитов Th1 (T-bet) и Th17 (RORC2) и их цитокин-секреторной активности (IFN γ , IL-17A) на фоне повышения экспрессии транскрипционного фактора FoxP3 Treg-лимфоцитов и секреции TGF β 1 при *in vitro* сокультивировании клеток аденокарциномы толстого кишечника COLO 201 с мононуклеарными лейкоцитами больных раком толстого кишечника, и обратимостью этих эффектов при добавлении к сокультуре специфического ингибитора галектина-1 OTX008.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность результатов, полученных в ходе исследования, выводов и выносимых на защиту положений подтверждается оптимальным дизайном исследования, достаточным объемом клиничко-лабораторного материала и использованием в работе современных и научно-обоснованных методов, адекватно отвечающих ее цели и задачам. Результаты подвергнуты корректному статистическому анализу.

Основные положения научной работы докладывались и обсуждались на научной конференции «Опухолевые маркеры: фундаментальные и клинические аспекты» (Республика Алтай, 2–6 августа 2022 г.), XXVIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Научоемкие лабораторные технологии для клинической медицины» (Москва, 20-22 марта 2023 г.), IV Балтийском симпозиуме по иммунологии, молекулярной и регенеративной медицине с международным участием «Механизмы воспаления и регенерации в норме и при патологии» (Калининград, 14-16 мая 2024 г.), 9th International Congress of Pathophysiology and 5th Congress of Physiological Sciences of Serbia with International Participation. Final Program and Abstract Book (Kragujevac, 2023 г.), XXIX Российском онкологическом конгрессе (Москва, 11-13 декабря 2025 г.).

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 25-25-20109, <https://rscf.ru/project/25-25-20109/>) и субсидии, выделяемой Администрацией Томской области (соглашение № 02/3/2025).

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 111 страницах печатного текста и содержит разделы: введение, четыре главы (обзор

литературы, материал и методы исследования, результаты исследования, обсуждение результатов), заключение, выводы, список сокращений и список литературы. В диссертации представлены 6 рисунков и 10 таблиц. Библиографический список содержит 208 источников, включая 9 работ отечественных и 199 работ зарубежных авторов.

Публикации. По теме диссертации автором опубликовано 12 научных работ, из них 7 статей в рецензируемых научных изданиях, в том числе 6 – в научных изданиях, входящих в перечень ВАК при Министерстве науки и высшего образования России и международные базы WoS и/или Scopus, и 5 тезисов в сборниках научно-практических мероприятий.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации. Автор лично участвовал в планировании исследования, включая разработку его дизайна, концепции, цели и задач. Выполнял клинико-лабораторные методы исследования, статистическую обработку, анализ и обсуждение результатов. Принимал непосредственное участие в подготовке научных публикаций по теме исследования, как самостоятельно, так и в соавторстве. Все главы диссертации и иллюстративные материалы были подготовлены непосредственно автором.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Этиология и факторы риска рака толстого кишечника

Рак толстого кишечника (РТК) представляет собой одну из наиболее часто встречающихся злокачественных опухолей, которая занимает третье место по распространенности и второе место по смертности, независимо от пола. В 2022 году было зафиксировано не менее 1,9 млн новых случаев рака толстого кишечника и 900 000 смертей, связанных с данной патологией [Bray F. et al., 2024]. В США колоректальный рак (КРР) находится на третьем месте в структуре онкологической заболеваемости, третьей и четвертой по значимости причиной смерти от рака у мужчин и женщин соответственно [Siegel R.L. et al., 2024]. Рак ободочной и прямой кишки занимает лидирующие позиции по количеству выявленных случаев в Российской Федерации. Так, в 2024 году рак толстого кишечника был впервые диагностирован, как минимум, у 60 000 пациентов, что соответствует третьему месту среди мужчин и женщин. Число больных, взятых на учет с впервые в жизни установленным диагнозом, в Томской области составило 343 и 199 случаев для рака ободочной и прямой кишки соответственно. Летальность в течение года с момента установления диагноза злокачественных новообразований (ЗНО) толстого кишечника в РФ составляет 20,2 и 16,7 % для ободочной и прямой кишки (в том числе ректосигмоидного соединения и ануса) соответственно [Каприн А.Д. и соавт., 2025]. РТК можно считать маркером социально-экономического развития страны. Наибольшее число заболевших регистрируется в европейских регионах, Австралии и Северной Америке, а наименьший процент заболевших приходится на жителей Африки и Центральной Азии [Fitzmaurice C. et al., 2019]. Несмотря на тенденцию к снижению заболеваемости и смертности вследствие появления новых подходов к лечению и реализации скрининговых программ, колоректальный рак все еще остается значимой социально-экономической проблемой в современном обществе [Siegel R.L. et al., 2024].

Хотя в подавляющем большинстве случаев рак толстого кишечника является sporadическим заболеванием, вклад генетических и средовых факторов играет немаловажную роль. Согласно современным данным, этиологическая структура колоректального рака гетерогенна: около 65 % случаев классифицируются как sporadические, 25 % ассоциированы с отягощенным семейным анамнезом, и приблизительно 10% обусловлены наследственными синдромами. Как правило, злокачественные опухоли толстого кишечника развиваются в пределах доброкачественных полипов-предшественников у лиц старшей возрастной группы. Среди генетически детерминированных форм наиболее распространенными являются синдром Линча и наследственный аденоматозный полипоз (*familial adenomatous polyposis* – FAP). Значительно реже встречаются и другие наследственные формы, например, *MutYH*-ассоциированный полипоз [Malki A. et al., 2020; Goosenberg E. et al., 2025].

Среди модифицируемых факторов риска развития рака толстого кишечника ключевое значение имеют особенности образа жизни: «западный» тип питания, гиподинамия, курение и потребление алкоголя. Отдельное внимание уделяется метаболическому синдрому (ожирение, сахарный диабет) и нарушениям микробиоты кишечника, которые создают провоспалительный фон, предрасполагающий к злокачественной трансформации эпителия [Ionescu V.A. et al., 2023]. Преобладание в рационе красного мяса является мощным независимым фактором риска КРР. Ассоциация, как правило, более выражена для лиц мужского пола и рака прямой кишки, нежели ободочной. Повышенный риск может быть связан с образованием в процессе приготовления мяса химических канцерогенов (гетероциклические амины, полициклические ароматические углеводороды), хотя это и не исключает возможного вклада других смешанных факторов, таких как более высокое потребление жира и отсутствие физической активности. Более того, нет достоверных данных о том, что полное исключение красного мяса из рациона снижает риск ЗНО толстого кишечника [Pan P. et al., 2018]. Значимым предиктором развития заболевания является отягощенный семейный анамнез: риск возникновения опухоли достоверно возрастает у лиц, имеющих родственников

первой линии с верифицированным колоректальным раком или аденоматозными полипами. Кроме того, согласно T. Sawicki et al. к группе высокого риска относятся пациенты с длительно текущими воспалительными заболеваниями кишечника (неспецифический язвенный колит, болезнь Крона). Патогенетическая связь в данном случае обусловлена хроническим воспалительным процессом, сопровождающимся продукцией провоспалительных цитокинов и окислительным стрессом. Данные факторы индуцируют повреждение ДНК в эпителиоцитах, что способствует генетической нестабильности и инициации злокачественной трансформации [Sawicki T. et al., 2021]. Возможно, антиканцерогенным эффектом обладают продукты с высоким содержанием клетчатки, так как они способствуют разбавлению фекальных канцерогенов и уменьшению времени прохождения каловых масс по толстой кишке [Pericleous M. et al., 2013]. Аналогичным образом для профилактики КРР рекомендуется употреблять достаточное количество фруктов, овощей и витаминов, выступающих в роли антиоксидантов [Bradbury K.E. et al., 2014]. Витамин D способен ингибировать пролиферацию и апоптоз клеток *in vitro*, а его дефицит считается важным фактором риска для многих типов солидных опухолей, в том числе рака толстого кишечника [McCullough M.L. et al., 2019]. Тем не менее, рутинный скрининг на наличие дефицита витамина D не рекомендован, так как потенциальную пользу от его назначения в виде добавок для профилактики аденом толстого кишечника (АТК) может получить ограниченное число пациентов со специфическими аллелями рецептора витамина D [Barry E.L. et al., 2017]. Более того, добавки витамина D не увеличивают общую выживаемость больных с ЗНО толстого кишечника [Lewis C. et al., 2016]. Достоверным способом профилактики КРР у лиц с семейным аденоматозным полипозом или АТК является длительный прием низких доз аспирина, что, в том числе, может быть связано с ингибированием онкогенов *APC* и *KRAS* [Nafisi S. et al., 2023]. Достаточное потребление кальция рассматривается как эффективная стратегия химиопрофилактики колоректального рака. Протективный механизм носит мультимодальный характер: он включает снижение цитотоксичности вторичных желчных кислот за счет их связывания в просвете кишки, прямую модуляцию

клеточного цикла (ингибирование пролиферации и индукцию апоптоза), а также уменьшение частоты соматических мутаций в протоонкогене *KRAS* [Sawicki T. et al., 2021]. Так называемый «средиземноморский» тип питания (Mediterranean Diet), рацион которого включает в себя употребление большого количества фруктов, овощей, орехов, рыбы, бобовых и злаковых при умеренном потреблении алкоголя, низком потреблении молочных и мясных продуктов – снижает риск развития КРР, особенно у женщин [Mentella M.C. et al., 2019]. По данным литературы, доказанным профилактическим потенциалом обладает диета с высоким содержанием фолатов и омега-3 полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК). Антиканцерогенный эффект омега-3 реализуется за счет конкурентного подавления синтеза провоспалительных медиаторов из омега-6 жирных кислот и, по последним данным, наиболее выражен при опухолях с «диким» типом гена *KRAS*. Дополнительный вклад вносит потребление фитохимических соединений растений, способных модулировать сигнальные пути выживания и апоптоза трансформированных клеток [Kim S. H. et al., 2022]. Тем не менее, данные о влиянии потребления рыбы и ПНЖК на риск возникновения КРР остаются неоднозначными. В другом крупном когортном исследовании не было обнаружено общей статистически значимой связи между потреблением омега-3 ПНЖК и снижением риска колоректального рака, хотя для рака прямой кишки (но не ободочной) был отмечен протективный эффект докозагексаеновой кислоты. Более того, в этом же исследовании было продемонстрировано, что высокое потребление линолевой кислоты (класса омега-6) ассоциировано с повышением риска развития заболевания. Эти данные подчеркивают сложность оценки вклада различных классов жирных кислот в канцерогенез и отсутствие универсального профилактического эффекта [Shin A. et al., 2020].

1.2 Патогенез рака толстого кишечника

Развитие КРР происходит из популяции кишечных стволовых клеток

(intestinal stem cells – ISCs), ответственных за обновление эпителия в кишечных криптах [Imada S. et al., 2024]. По всей видимости, ключевым событием в формировании аденом является активация сигнального пути Wnt/ β -catenin, следствием чего служит избыточная пролиферация эпителия кишечных крипт, а накопление дополнительных мутаций, связанных с дефектом системы репарации ДНК или хромосомной нестабильности, приводит к увеличению числа соматических и эпигенетических изменений, способствующих малигнизации. Причиной гиперактивации Wnt-пути являются мутации в ключевых генах-онкосупрессорах – *APC (adenomatous polyposis coli)* и *CTNNB1* β -катенина [Malki A. et al., 2020].

Кроме того, для кишечных крипт важен правильный баланс сигналов, поступающих от рецептора эпидермального фактора роста (EGFR). Передача сигнала в ядро клетки осуществляется посредством сигнального пути MAPK (mitogen-activated protein kinase). Точечные мутации генов *RAS* или *BRAF* вызывают конститутивную активацию пути MAPK, что способствует пролиферации и выживанию злокачественных клеток, резистентности к терапии анти-EGFR антителами и снижению общей выживаемости пациентов [Patelli G. et al., 2021]. Примерно в 10 % аденокарцином толстого кишечника возникает мутация гена *PIK3CA*, кодирующего субъединицу p110 α фермента фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) – участника сигнального пути PI3K-Akt-mTOR, опосредующего рост, пролиферацию и выживание клеток. Кроме того, киназа PI3K является компонентом пути Wnt [Stefani C. et al., 2021]. Гиперэкспрессия или амплификация одного из основных участников MAPK/ERK и PI3K/AKT сигнальных путей – рецептора эпидермального фактора роста (human epidermal growth factor receptor – Her) 2 – инициирует рост и метастазирование опухоли. Данное молекулярно-генетическое событие встречается при КРР в 2-3 % случаев [Torres-Jiménez J. et al., 2022]. В процессе малигнизации происходят и другие молекулярно-генетические изменения, например, такие как транслокации *ALK (anaplastic lymphoma kinase) /ROS (c-ros oncogene)1* или *NTRK (neurotrophic tyrosine receptor kinase)*, которые, несомненно, вносят свою лепту в формирование ЗНО толстого кишечника, но

встречаются при данной локализации значительно реже [Pietrantonio F. et al., 2017].

При КРР достаточно частым молекулярным событием является хромосомная нестабильность (chromosome instability – CIN) опухоли, возникающая в результате нарушения сегрегации хромосом в процессе митотического деления, следствием чего служит изменение их количества и структуры, неоднородность кариотипа [Nguyen L.H. et al., 2020]. CIN обычно связана с точечными активирующими мутациями онкогенов *KRAS G12C* и *PIK3CA* в комбинации с инактивацией генов-супрессоров *TP53*, *APC*. Мутации белка p53 играют решающую роль в переходе «аденома – карцинома», инвазии и метастазировании опухоли [Duta-Ion S. G. et al., 2024]. Около 20 % случаев РТК характеризуется дефектами системы репарации неспаренных оснований (mismatch repair – MMR). В процессе репликации ДНК возможна вставка некоплементарного нуклеотида в цепочку. Данное несоответствие (mismatch) распознается и устраняется системой MMR, а последующая вставка комплементарных нуклеотидов, обеспечиваемая ДНК-полимеразой, необходима для поддержания стабильности генома клетки [De' Angelis G.L. et al., 2018]. Мутации или модификации генов системы mismatch repair *MLH (mutL homolog)1*, *MSH2*, *MSH6* или *PMS (postmeiotic segregation increased)2* могут развиваться спорадически, в связи с метилированием CpG-островков (CIMP) или в результате семейной предрасположенности к наследственному неполипозному колоректальному раку (hereditary non-polyposis colorectal cancer – HNPCC), известному как синдром Линча. В любом случае, дефицит системы репарации неспаренных оснований (mismatch repair-deficient, dMMR) приводит к накоплению большого числа ошибок в микросателлитах – микросателлитной нестабильности (MSI). Мутации генов MMR или *EPCAM* при синдроме Линча ведут к увеличению числа ошибок при репликации ДНК более чем в 100 раз, в результате чего аденомы прогрессируют в карциному всего лишь в течение 3-5 лет, а риск РТК в течение жизни достигает 40-70 %. Помимо колоректального рака при синдроме Линча значительно увеличивается риск развития рака эндометрия, желудка, яичников и др. [Hause R.J. et al., 2016]. Опухоли с высоким уровнем микросателлитной нестабильности (microsatellite instability-high – MSI-H) редко

встречаются у пациентов с отдаленными метастазами, так как имеют относительно низкий метастатический потенциал. Фактически у пациентов с ранними стадиями заболевания дефицит экспрессии белка MMR или опухолевый статус MSI-H является прогностическим маркером более благоприятного исхода [Alex A.K. et al., 2017]. По всей видимости, опухоли dMMR имеют значительную мутационную нагрузку, что может привести к кодированию тысяч аномальных белков, распознаваемых иммунной системой, что является предиктором наилучшего ответа на иммунотерапию [Le D.T. et al., 2017]. Наиболее всеобъемлющей молекулярно-генетической классификацией колоректального рака является опубликованный в 2015 году консенсус по молекулярно-генетическому субтипированию рака толстого кишечника (CMS – consensus molecular subtypes). Тем не менее, на сегодняшний день этот подход не продемонстрировал клинического значения [Guinney J. et al., 2015].

Согласно ряду исследований, важную роль в патогенезе РТК играет опухолевая микросреда (tumor microenvironment – TME) [Al-Zoughbi et al., 2020]. Она включает в себя кровеносные сосуды, внеклеточный матрикс, опухоль-ассоциированные фибробласты (cancer-associated fibroblasts – CAFs), лейкоциты, другие клетки неопухолевой природы и различные сигнальные молекулы. Компоненты микроокружения способны стимулировать пролиферацию опухоли, поддерживать реакции опухоль-ассоциированного воспаления, подавлять противоопухолевый иммунитет [Mao X et. al., 2021]. Опухоль-ассоциированные макрофаги (tumor-associated macrophages – TAMs) могут содействовать экстравазации злокачественных клеток, обеспечивая тем самым распространение метастазов, индуцировать ангиогенез, ремоделирование стромы и подавлять иммунитет [Чердынцева Н.В. и соавт., 2017]. Аналогичным образом иммунные клетки могут влиять на эволюцию, рост и прогрессирование опухоли у пациентов, страдающих различными типами рака [Gonzalez H. et.al., 2018]. В то же время опухолевая интоксикация может являться причиной нарушения клеточно-эффektorного звена иммунитета [Савченко А.А. и соавт., 2023]. Компоненты экстрацеллюлярного матрикса, помимо участия в адгезии и миграции опухолевых

клонов, необходимы для реализации эффектов сигнальных молекул, синтезируемых опухолью и окружающими клетками [Walker C. et al., 2018]. Недавние исследования показали, что рекрутирование и перепрограммирование иммунных клеток в межклеточном пространстве является следствием взаимодействия злокачественной опухоли с компонентами опухолевого микроокружения. Более того, это может привести к прогрессированию опухоли [Mahajan U. M. et al., 2018]. Согласно данным литературы, опухолевые клетки способны «программировать» опухоль-ассоциированное микроокружение за счет синтеза различных цитокинов, в том числе галектинов [Farhad M. et al., 2018].

1.3 Галектины – молекулы межклеточной коммуникации

Галектины относятся к филогенетически консервативному семейству растворимых белков-лектинов, особенностью которых является связывание β -галактозидов [Cummings R. D. et al., 2022]. История изучения галектинов началась в 1975 году, когда V. I. Teichberg с коллегами выделили электролектин из ткани электрического угря *Electrophorus electricus* [Teichberg V. I. et al., 1975]. Другие члены семейства лектинов были пронумерованы последовательно в порядке обнаружения. На сегодняшний день у млекопитающих идентифицировано не менее шестнадцати представителей семейства галектинов, из них галектины 5, 6, 11 и 15 не встречаются у человека. Хотя галектины и не способны распознавать специфические вне- и внутриклеточные рецепторы, их лигандами, как правило, выступают молекулы с определенным профилем гликозилирования, включающим N-ацетиллактозамин или его модификации [Chou F. C. et al., 2018; Si Y. et al., 2021]. Данная особенность позволяет галектинам идентифицировать широкий спектр гликановых рецепторов, а в некоторых случаях напрямую взаимодействовать с внутриклеточными белковыми мишенями. Такое сродство к гликоконъюгатам клеточной поверхности обеспечивается благодаря β -галактозид-связывающим сайтам консервативного углевод-распознающего домена (carbohydrate-recognition

domain – CRD) галектинов. Согласно современной номенклатуре, среди семейства галектинов принято выделять три основные группы в зависимости от их молекулярной структуры и количества CRDs. Так, галектины, содержащие один CRD (Gal-1, Gal-2, Gal-5, Gal-7, Gal-10, Gal-11, Gal-13, Gal-14, Gal-15 и Gal-16), относятся к прототипному типу. Тандем-повторные галектины типов 4, 6, 8, 9 и 12 имеют два гомологичных углевод-распознающих домена, соединенных линкерным участком. Уникальная среди представителей семейства структура галектина-3 характеризуется одним С-концевым CRD и большим нелектиновым N-концевым доменом, необходимым для его олигомеризации [Godula K. et al., 2018; Cummings R.D. et al., 2022]. В отличие от других членов семейства, галектин-16 не способен связывать β -галактозу [Si Y. et al., 2021].

Синтезированные на свободных полисомах галектины можно обнаружить не только во внеклеточном матриксе или наружной плазматической мембране, но и внутри клетки – в ядре и цитоплазме [Cummings R.D. et al., 2022]. Механизм экспорта галектинов в межклеточное пространство до конца не изучен. Согласно данным некоторых авторов, для секреции галектина-3 важна его предварительная олигомеризация [Delacour D. et al., 2009]. Способ транслокации галектина-1 может быть схож с механизмом переноса фактора роста фибробластов 2 через плазматическую мембрану – прямая транслокация [Schäfer T. et al., 2004]. Возможно, на секрецию галектина-1 влияют сами гликаны клеточной поверхности [Seelenmeyer C. et al., 2005]. В то же время недавние работы по изучению секреции галектина-3 не показали, что гликозилированные белки являются обязательным условием экспорта галектина-3 [Stewart S. E. et al., 2017]. Ряд авторов отмечает, что секреция галектинов происходит посредством «неклассического пути», поскольку у них отсутствует сигнальный пептид для секреции обычным способом [Hughes R. C. et al., 2001; Pora S. J. et al., 2018]. Способы секреции галектинов из цитоплазмы могут отличаться в зависимости от представителя семейства и требуют дальнейшего изучения.

Галектины были идентифицированы в различных органах и тканях, включая почки, печень, эпителий желудочно-кишечного тракта и дыхательного трактов. Их

экспрессия доказана в моноцитах, тучных клетках, нейтрофилах, фибробластах, активированных Т-лимфоцитах и других компонентах иммунной системы [Rabinovich G. A., Liu F. T. et al., 2007; Punt S. et al., 2015]. Хотя внеклеточная углевод-связывающая активность галектинов и стала их отличительной особенностью, взаимодействие внутриклеточных галектинов с несколькими лигандами как CRD-опосредованным, так и CRD-независимым способом позволила галектинам значительно расширить свои биологические функции [Vladoiu M. C. et al., 2015]. Галектины участвуют в регуляции адгезии и миграции клеток, синтезе цитокинов, воспалении, индукции апоптоза, поддержании гомеостаза иммунных клеток, эмбриогенезе, пролиферации и дифференцировке клеток [Rabinovich G. A., 2002; Liu F. T., 2005; Brinchmann M. F. et al., 2018; Chan Y. C. et al., 2018]. Они играют важную роль во врожденном и адаптивном иммунитете, в том числе за счет регуляции субпопуляционного состава Т-лимфоцитов [Rabinovich G. A. et al., 2002; Rubinstein N. et al., 2004].

Согласно данным литературы, галектины играют фундаментальную роль в биологии рака, в частности принимают участие во всех ключевых этапах канцерогенеза (трансформации и росте опухоли, апоптозе злокачественных клеток, неангиогенезе, миграции и метастазировании) [Liu F. T. et al., 2005; Astorgues-Xerri L. et al., 2014; Thijssen V. L. et al., 2015; Girotti M. R. et al., 2020]. Эффекты галектинов достаточно variabelны. Галектины 7 и 9 способны индуцировать апоптоз за счет активации сигнального пути JNK (c-Jun N-terminal kinases) [Moisan S. et al., 2003; Kobayashi T. et al., 2010]. Химерный галектин-3 обладает противоположным эффектом [Fukumori T. et al., 2004], но при этом выступает в роли промотора пролиферации злокачественных клеток [Ikemori R. Y. et al., 2014], в отличие от галектина 7 [Ueda S. et al., 2004]. Галектин-1 играет ключевую роль в активации сигнальных путей RAS/RAF/ERK/MEK и PI3K/MTOR, тем самым способствуя клеточной пролиферации и накоплению мутаций [Michael J. V. et al., 2016]. Кроме того, функциональный потенциал галектинов не ограничен связыванием β -галактозидов. Так, в недавних работах было продемонстрировано, что внутриклеточный Gal-1 стабилизирует на плазматической мембране

нанокластеры активированной киназы H-Ras, тем самым поддерживая активность сигнального пути MAPK [Steffen C. L. et al., 2024].

Способность галектинов опосредовать клеточные и клеточно-матриксные взаимодействия характеризует эти белки как важные компоненты опухолевого микроокружения [Hughes R. C. et al., 2001]. Микросреда опухоли была признана важным фактором инвазии, метастазирования и прогрессирования рака, резистентности опухолей к лекарственному лечению [Hanahan D. et al., 2022]. Дисрегулированная экспрессия галектинов в опухоли была зарегистрирована в значительном количестве исследований и часто коррелирует со стадией рака и прогнозом [Thijssen V. L. et al., 2015]. Гиперэкспрессия и повышенная секреция галектинов опухолевыми клетками характерна для многих злокачественных новообразований, таких как меланома [Souri Z. et al., 2021], почечноклеточный рак [Кушлинский Н. Е. и соавт., 2024], рак молочной железы [Ramos-Martínez J. C. et al., 2022], опухоли костей [Кушлинский Н. Е. и соавт., 2023], ЗНО головного мозга [Lee C. et al., 2024] и толстого кишечника [Wu R. et al., 2018].

1.4 Роль галектина-1 в канцерогенезе

Галектин-1 (Gal-1) является гомодимерным белком, состоящим из субъединиц массой 14,5 кДа и двух β -галактозидсвязывающих сайтов. Ген галектина-1 *LGALS1* располагается на длинном плече 22 хромосомы (22q12) [Astorgues-Xerri L. et al., 2014]. Галектин-1 принимает участие во многих физиологических и патологических процессах посредством распознавания остатков N-ацетиллактозамина на различных гликозилированных клетках и компонентах межклеточного вещества [Cutine A. M. et al., 2021]. Связывание Gal-1 останавливается модификацией LacNAc α 2,6-сиалилтрансферазой 1 (ST6GAL1), которая добавляет α 2,6-связанную сиаловую кислоту к терминальной галактозе N-связанных гликанов [Hirabayashi J. et al., 2002].

Внутриклеточный галектин-1, как и другие члены этого семейства,

выделяется во внеклеточное пространство без участия эндоплазматического ретикулума (ЭПР) и аппарата Гольджи. Поскольку масса внеклеточного галектина-1 меньше, возможно, для его экспорта во внеклеточное пространство необходимы посттрансляционные модификации [Hughes R. C. et al., 1999; Satelli A. et al., 2008]. Галектин-1 характеризуется широким профилем тканевого распределения. Отмечается, что данный белок экспрессируется в клетках скелетных мышц, почечной ткани, коже, плаценте и гонадах, локализуясь как во внутриклеточном пространстве, так и во внеклеточном матриксе. Кроме того, указывается на конститутивную экспрессию галектина-1 в органах иммунной системы (тимус, лимфатические узлы), нейронах и эндотелии, что подчеркивает его фундаментальную роль в поддержании тканевого гомеостаза [Mielczarek-Palacz A. et al., 2022]. Одним из основных источников синтеза Gal-1 являются опухолевые клетки [Rubinstein N. et al., 2004; Holst J. M. et al., 2020]. Так, содержание галектина-1 в сыворотке крови и его экспрессия в опухолевой ткани были значительно выше у женщин с диссеминированным раком яичников, что негативно отражалось на общей выживаемости пациенток [Abdelwahab M. et al., 2019]. Гиперэкспрессия галектина-1 в опухоли обнаруживается при широком спектре злокачественных новообразований, включая меланому, глиобластому, лимфомы, а также рак поджелудочной железы, толстого кишечника, легкого и яичников. Авторы отмечают, что именно избыточная продукция данного лектина опухолевыми клетками и стромой формирует иммуносупрессивное микроокружение, способствуя прогрессии заболевания [Griffiths A. et al., 2025].

Для большинства типов злокачественных опухолей гиперэкспрессия галектина-1 в опухолевой ткани коррелирует с низкой выживаемостью пациентов и распространенным опухолевым процессом [Thijssen V. L. et al., 2015; Chawla S. et al., 2016]. Хотя мета-анализ и продемонстрировал, что в целом гиперэкспрессия данного лектина коррелирует с неблагоприятным прогнозом, между включенными в анализ исследованиями наблюдалась существенная статистическая гетерогенность. Авторы связывают это с различиями в дизайне работ и, что наиболее важно, с отсутствием унифицированных стандартов и пороговых

значений (cut-off values) для оценки уровня белка. В связи с этим подчеркивается необходимость проведения новых, строго стандартизированных исследований для уточнения прогностической ценности галектина-1 при конкретных локализациях опухоли [Wu R. et al., 2018].

Секреторная природа галектинов позволяет рассматривать их как перспективные циркулирующие биомаркеры злокачественных новообразований. В частности, при раке легкого отмечено повышение уровня галектина-1 в сыворотке крови и гиперэкспрессия его мРНК в опухолевой ткани по сравнению с нормой [Kuo P. L. et al., 2011]. Наличие в крови антител к галектину-1 может быть полезным биомаркером, отражающим его экспрессию в тканях при гепатоцеллюлярной карциноме [Nanami T. et al., 2021]. Тем не менее, при колоректальном раке сведения об уровне экспрессии галектина-1 опухолевыми клетками и его влиянии на канцерогенез остаются противоречивыми [Barrow H. et al., 2011]. Возможно, это обусловлено полиморфизмом гена *LGALS1*. Показано, что полиморфный вариант гена rs4820293 имеет важное значение в развитии миастении гравис [Pál Z. et al., 2010], а генотип *GG* функционального полиморфизма rs4820294 связан с повышенной устойчивостью человека к вирусу гриппа H7N9 [Chen Y. et al., 2015]. В то же время, полиморфизм rs4644 гена галектина-3 связан с активной пролиферацией злокачественных клеток при раке желудка и увеличением их резистентности к химиотерапии [Kim S. et al., 2011], а также с повышенной устойчивостью к апоптозу опухолевых клеток при раке молочной железы [Balan V. et al., 2008]. Различные генетические варианты гена галектина-1 могут объяснять гетерогенность уровней данного лектина в сыворотке крови у больных ревматоидным артритом [Triguero-Martínez A. et al., 2022].

1.5 Иммуносупрессивная роль галектина-1 в опухолевом микроокружении

Галектин-1-опосредованная регуляция функциональной и пролиферативной активности компонентов клеточного иммунитета обусловлена гликан-лектиновыми взаимодействиями на поверхности лейкоцитов [Schnaar R. L. et al., 2015]. В качестве мишеней галектинов могут выступать различные мембранные рецепторы лейкоцитов, такие как CD45, CD43 или TCR [Méndez-Huergo S. P. et al., 2017; Liu F. T. et al., 2023]. Секреция галектина-1 злокачественными клетками и компонентами опухоли-ассоциированного микроокружения, может быть причиной дисбаланса ключевых субпопуляций CD4⁺ Т-лимфоцитов, принимающих участие в противоопухолевом иммунном ответе, таких как CD4⁺ Т-хелперы (Th) – Th1 и Th17 [Toscano M. A. et al., 2007; Cedeno-Laurent F. et al., 2012]. Неоднородное влияние галектина-1 на субпопуляционный состав CD4⁺ Т-хелперов может быть обусловлено как дифференциальным сиапированием гликопротеиновых рецепторов лимфоцитов [Toscano M. A. et al., 2007], так и непосредственным участием галектина-1 в программах апоптоза. Согласно данным А. Griffiths и коллег, галектин-1, секретируемый опухолевыми клетками и компонентами микроокружения, выступает мощным индуктором гибели Т-лимфоцитов. Механизм этого действия включает активацию каспазного каскада и деполяризацию митохондриальной мембраны. Важной особенностью является способность галектина-1 дозозависимо сенсibilизировать покоящиеся Т-клетки к Fas/FasL-опосредованному апоптозу. Авторы отмечают, что реализация данных эффектов связана с продукцией церамидов при участии тирозинкиназ p56lck (lymphocyte-specific protein tyrosine kinase, 56 kDa) и ZAP (zeta-chain-associated protein kinase) 70, что в итоге приводит к элиминации эффекторных клеток [Griffiths A. et al., 2025]. Кроме того, часть инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (tumor-infiltrating lymphocytes – TILs) представлена субпопуляцией FoxP3⁺ Treg с иммуносупрессивными свойствами. Отмечена способность данных клеток эффективно подавлять функциональную активность Т-эффекторных лимфоцитов и обеспечивать выход опухоли из-под «иммунологического надзора», способствуя

прогрессии заболевания [Shan F. et al., 2022].

Исследования *in vitro* демонстрируют, что галектин-1 способен стимулировать дифференцировку и цитокинсекреторную активность Treg как опосредованно через дендритные клетки, так и воздействуя на рецепторы Treg [Cedeno-Laurent F. et al., 2012; Dalotto-Moreno T. et al., 2013]. Один из ключевых механизмов иммуносупрессии в микроокружении опухоли опосредован секреторной активностью CD4⁺FoxP3⁺ Т-регуляторных клеток. Продукция ими ингибирующих цитокинов, в частности IL-10 и трансформирующего фактора роста (TGF) β приводит к прямому подавлению пролиферации CD4⁺ Т-хелперов и эффекторных CD8⁺ Т-клеток, снижая тем самым их цитокин-секреторную активность (секрецию IL-2, интерферона (IFN) γ) [Togashi Y. et al., 2019]. Более того, Treg реализуют двойной механизм подавления иммунного ответа, опосредованный молекулой CTLA (cytotoxic T lymphocyte antigen) 4. Взаимодействие Treg с антиген-презентирующими клетками приводит к экстракции (трогоцитозу) костимулирующих молекул CD80. Снижение плотности CD80 не только ограничивает активацию наивных Т-клеток, но и вызывает диссоциацию комплексов CD80/PD-L1, повышая биодоступность свободного лиганда PD-L1 для подавления эффекторных Т-лимфоцитов через сигнальный путь PD-1(programmed cell death protein 1) [Tekguc M. et al., 2021]. Gal-1 способствует расширению субпопуляции Treg за счет промоции транскрипционного фактора FoxP3 и модулирования их цитокин-секреторной активности (IL-10 и TGFβ), в частности у пациентов с аденокарциномами толстого кишечника [Camby I. et al., 2006; Cedeno-Laurent F. et al., 2012; Astorgues-Xerri L. et al., 2014]. Помимо этого, галектин-1 способен напрямую связываться с Treg и способствовать их миграции в опухолевое микроокружение. Возможно, блокирование взаимодействия Gal-1 с Treg может быть потенциальной стратегией лечения КРР [Ito K. et al., 2012].

Выработка Th1-клетками IFNγ ингибирует метастазирование и опухолевый ангиогенез, инициирует апоптоз злокачественных клеток. Кроме того, Th1-хелперы блокируют дифференцировку Т-регуляторных клеток, способствуют перепрограммированию фенотипа макрофагов в провоспалительном M1-

направлении [Jorgovanovic D. et al., 2020]. Реализация противоопухолевых эффектов $CD4^+$ Th1-лимфоцитов усиливает ответ на лекарственное лечение и способствует увеличению общей выживаемости пациентов [Fridman W H. et al., 2012]. Рекрутирование дополнительных $CD4^+$ Th1-лимфоцитов в опухолевое микроокружение ассоциировано с более благоприятным течением опухолевого процесса. Данная закономерность прослеживается, в том числе, при немелкоклеточном раке легкого [Karachaliou N. et al., 2018], раке молочной железы [Huang Y. et al., 2015] и аденокарциноме толстого кишечника [Slattery M. L. et al., 2011]. IFN γ может оказывать и негативное влияние на канцерогенез, способствуя метастазированию и иммуносупрессии [Jorgovanovic D. et al., 2020].

Основная роль Th17-лимфоцитов состоит в защите хозяина от внеклеточных агентов. Дифференцировка Th17-хелперов происходит в основном под действием цитокинового микроокружения, в котором ключевую роль играют TGF β и IL-6. Основным эффекторным продуктом, синтезируемым зрелыми Th17-клетками, является IL-17A, обладающий широким спектром провоспалительных эффектов [Zhang X. et. al., 2025]. Благодаря своей фенотипической пластичности Th17 способны переходить в другие подтипы Т-хелперов [Stadhouders R. et al., 2018]. Их влияние на канцерогенез остается неоднозначным, так как, с одной стороны, Th17-клетки способствуют ангиогенезу, выживанию и метастазированию опухолевых клеток, а с другой, – обеспечивают «вербовку» в опухолевый очаг $CD8^+$ Т-лимфоцитов и НК-клеток, осуществляющих противоопухолевую цитотоксическую активность [Ye J. et al., 2013; Amicarella F. et al., 2017; Fridman W.H. et al., 2017]. Кроме того, между популяциями Th17 и Treg существуют сложные антагонистические взаимоотношения, а нарушение баланса в данной оси может выступать драйвером опухолевой прогрессии. Согласно литературным данным, этот процесс реализуется по двум основным сценариям: либо через индукцию хронического протуморогенного воспаления (при неконтролируемой активности Th17), либо вследствие подавления реакций адаптивного противоопухолевого иммунитета (при доминировании супрессивных Treg) [Knochelmann H. M. et al., 2018]. Поскольку направление дисбаланса варьируется в зависимости от типа

опухоли [Ye J. et al., 2013; Knochelmann H. M. et al., 2018; Qianmei Y. et al., 2021], роль Th17 остается неоднозначной [Gajewski T. F. et al., 2013].

Согласно некоторым данным, при раке толстого кишечника галектин-1 ингибирует дифференцировку и выработку противоопухолевого цитокина IFN γ Th1-лимфоцитами [Chung C. D. et al., 2000; Cedeno-Laurent F. et al., 2012]. Помимо повышения секреции IL-17 Т-хелперами типа 17, галектин-1 способствует дифференцировке наивных Т-лимфоцитов в Th17-клетки посредством индукции фактора транскрипции RORC2 (Retinoic acid receptor-related orphan nuclear receptor gamma t) [Garín M. I. et al., 2007; Parregui J. M. et al., 2009]. Учитывая, что Th17-клетки способны оказывать как про-, так и противоопухолевые эффекты в зависимости от типа опухоли и присутствия других иммунных клеток в опухолевом микроокружении – необходимо дальнейшее изучение взаимоотношений между галектином-1, Th1, Th17 и Treg с целью идентификации галектин-1-опосредованных механизмов регуляции реактивности данных субпопуляций [Gajewski T. F. et al., 2013; Astorgues-Xerri L. et al., 2014; Amicarella F. et al., 2017; Jorgovanovic D. et al., 2020; Qianmei Y. et al., 2021]. Хотя ингибиторы иммунных контрольных точек и показали свою эффективность в лечении меланомы, опухолей легкого и почек, при раке толстого кишечника их применение ограничено опухолями dMMR (dMMR – mismatch repair-deficient) [Ganesh K. et al., 2019], что диктует необходимость дальнейшего изучения механизмов взаимодействия опухоли с иммунной системой с целью разработки новых подходов к лечению.

1.6 Модуляция эффектов галектинов с помощью ингибиторов

Конкурентное ингибирование связывания углеводов с галектинами возможно благодаря специфичности CRD-домена галектинов к определенным гликанам [Godula K. et al., 2018]. Тем не менее, ингибиторы галектинов, состоящие из модифицированных моно- или дисахаридов [van Klaveren S. et al., 2022],

зачастую не обладают абсолютной селективностью [Hsieh T. J. et al., 2016]. Кроме того, подавление связывания и, следовательно, биологических эффектов галектинов, возможно с помощью аллостерических ингибиторов, взаимодействующих с галектинами за пределами CRD-домена. Так, на мышинных моделях меланомы, рака яичников и легкого показано, что DB21 ингибирует связывание гликанов галектином-1 неконкурентным, аллостерическим образом [Dings R. P. et al., 2013]. Как и в случае с конкурентными ингибиторами галектинов, при использовании аллостерических ингибиторов возможна блокада нескольких галектинов одновременно одним и тем же ингибитором, что было продемонстрировано на примере OTX008 [Dings R. P. et al., 2012; Miller M. C. et al., 2021], проявляющего противоопухолевую активность отдельно или в сочетании с другими методами лечения при глиобластоме, опухолях яичников и щитовидной железы [Zucchetti M. et al., 2013; Gheysen L. et al., 2021]. Кроме того, в качестве ингибиторов галектинов 1 и 3 были охарактеризованы моноклональные антитела, эпитоп распознавания которых также находится за пределами CRD-домена [Pérez Sáez J. M. et al., 2021; Stasenko M. et al., 2021]. Одной из основных проблем при использовании блокирующих антител является то, что они ингибируют только внеклеточные галектины (частичные ингибиторы), не имеют ограниченного распределения в организме, селективности в отношении здоровых и трансформированных клеток. Регулирование эффектов галектинов возможно посредством контроля экспрессии генов с помощью малых интерферирующих РНК (siRNA, small interfering RNA) и малых некодирующих молекул РНК (miRNA, micro interfering RNA). Данный метод обеспечивает высокий контроль гликан-опосредованных и гликан-независимых эффектов галектина-8 при раке легкого и поджелудочной железы [Meinohl C. et al., 2019], галектина-1 при метастатическом раке яичников [Park G. B. et al., 2017]. Кроме того, перспективным методом изучения как функций галектинов и их влияния на опухолевый процесс, так и разработки новых лекарственных препаратов является технология редактирования генома CRISPR/Cas9 [Khurana A. et al., 2022]. Ингибирование эффектов галектинов позволяет модулировать состав и функции опухолевого микроокружения, что

может быть использовано с целью лечения злокачественных новообразований [Van Woensel M. et al., 2017].

Диапазон эффектов ингибиторов галектинов зависит как от типа блокируемого лектина, так и от вида опухоли. Показано, что ингибиторы галектинов способны потенцировать действие стандартных методов лечения. В частности, отмечается синергический эффект при их сочетании с режимами химио- и иммунотерапии [Van Woensel M. et al., 2017]. Так, введение модифицированного цитрусового пектина (MCP) *in vivo* ингибировало CRD-опосредованные эффекты галектина-3 и способствовало снижению опухолевого ангиогенеза и метастазирования у мышей с раком молочной железы и толстого кишечника [Nangia-Makker P. et al., 2002; Wang L. et al., 2020]. Эффективность данного соединения также продемонстрирована при раке яичников, в том числе в комбинации с паклитакселом [Hosseini G. et al., 2019; Keizman D. et al., 2021], анапластическом раке щитовидной железы [Menachem A. et al., 2015], аденокарциноме толстого кишечника [Subudhi M. B. et al., 2015]. Галектины 1 и 3 могут быть потенциальной мишенью антиангиогенной терапии [Schulkens I. A. et al., 2013], что согласуется с опытами *in vivo*, когда нокаут генов галектинов уменьшал васкуляризацию тканей [Markowska A.I. et al., 2010; Freitag N. et al., 2013]. Согласно данным, полученным A.I. Markowska с коллегами, ингибитор галектина-3 Gal-3C уменьшал *in vitro* ангиогенез, опосредованный VEGF (vascular endothelial growth factor, сосудистый эндотелиальный фактор роста) и bFGF (basic fibroblast growth factor, основной фактор роста фибробластов) [Markowska A. I. et al., 2010]. Примечательно, что экспрессия VEGF характерна и для Т-лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль или циркулирующих в периферической крови [Юшков Б.Г., 2017]. Изолированное ингибирование эффектов галектина-3 *in vivo* и в комбинации с Бортезомибом при множественной миеломе способствует уменьшению роста опухоли [Mirandola L. et al., 2011], а также понижению ангиогенного и инвазивного потенциалов культивируемых клеточных линий рака яичников [Mirandola L. et al., 2014]. Антиангиогенный эффект Ангинекса, блокирующего эффекты галектина-1 и других лектинов, показан на нескольких

экспериментальных моделях рака [Wdowiak K. et al., 2018]. Нейтрализация галектина-4 с помощью антител при колоректальном раке вызывает значительные изменения в транскрипции ряда генов и выработке хемокинов опухолевыми клетками [Rao U. S. et al., 2017]. Связывание ингибитора галектина-1 (LLS2) с интерфейсом между димерными субъединицами галектина-1 уменьшает мембрано-ассоциированную экспрессию белков H-Ras и K-Ras и способствует подавлению сигнальных путей CXCR4, RAS/ERK при злокачественных опухолях оболочек периферических нервов [Shih T. C. et al., 2019]. Применение LLS2 в комбинации с таксанами в экспериментах *in vitro* и *in vivo* усиливает цитотоксический эффект противоопухолевой терапии в отношении клеточных моделей рака яичников, предстательной и молочной желез [Shih T. C. et al., 2017]. Кроме того, данные ингибиторы оказывают прямое цитотоксическое действие на опухолевые клетки и опухоль-ассоциированную строму (например, фибробласты) [Tsai Y. T. et al., 2022]. Согласно исследованиям других авторов, Gal-9 значительно снижает риск инвазии и метастазирования опухолевых клеток при меланоме и раке толстого кишечника [Nobumoto A. et al., 2008]. Данные в отношении галектинов 1 и 3 демонстрируют обратное – нокдаун галектина 1 снижает метастатический потенциал злокачественных опухолей толстого кишечника и легкого [Banh A. et al., 2011; Ito K., Ralph S. J. et al., 2012], а гиперэкспрессия галектина 3 может увеличивать адгезию клеток рака к экстрацеллюлярному матриксу [O'Driscoll L. et al., 2002]. Эффективность подхода нокаута экспрессии генов с помощью РНК-интерференции оценена в клинических исследованиях. Благодаря этому методу рядом авторов продемонстрирована эффективная регуляция экспрессии галектина-1, галектина-3, галектина-8 и галектина-9. Например, галектины 1 и 3 являются компонентами механизма сплайсования пре-мРНК. Подавление экспрессии галектина-3 приводит к изменению сплайсинга нескольких генов, включая онкоген SET (nuclear proto-oncogene) [Fritsch K. et al., 2016]. Кроме того, галектин-3 регулирует транскрипционную активность генов, ответственных за злокачественную трансформацию. Продемонстрировано существование положительной регуляторной петли между галектином-3 и фактором FOXD

(forkhead box D) 1 при раке легкого. В этом механизме галектин-3 поддерживает высокую активность FOXD1, что, в свою очередь, стимулирует активность промоторов ключевых онкогенов и способствует приобретению опухолевыми клетками агрессивного фенотипа [Li C. H. et al., 2019].

Кроме того, блокирование эффектов галектинов оказывает влияние на состав и функциональную активность клеток иммунной системы. Так, использование ингибитора галектина-3 при аденокарциноме легкого способствует M1-поляризации макрофагов и инфильтрации опухоли CD8⁺ Т-клетками, что потенцирует эффекты ингибиторов иммунных контрольных точек [Vuong L. et al., 2019; Zhang H. et al., 2021]. Благодаря антагонисту галектина-3 (GCS-100) происходит отделение галектина-3 от CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль и, как следствие, увеличение их цитотоксической и цитокинсекреторной активности, что модулирует противоопухолевый иммунный ответ [Demotte N. et al., 2010]. Схожим *in vitro* действием на популяцию CD8⁺ Т-клеток в виде усиления цитотоксических свойств и секреции IFN γ обладает ингибитор галектинов GM-CT-01 (DAVANAT[®]), эффекты которого показаны в том числе на клеточных линиях РТК [Demotte N. et al., 2014; Gordon-Alonso M. et al., 2017]. Изучение опухолей на мышинных моделях с использованием ингибитора Gal-3 (Белапектин; GR-MD-02) в сочетании с ко-стимулирующей молекулой аOX40 продемонстрировало увеличение плотности CD8⁺ Т-лимфоцитов в опухоли, а также снижение пролиферативной активности CD4⁺FoxP3⁺ Treg, что было ассоциировано со значительным увеличением выживаемости мышей [Sturgill E. R. et al., 2021]. Эффективность GR-MD-02 оценена у пациентов с меланомой, плоскоклеточным раком головы и шеи, а также у больных с немелкоклеточным раком легкого в сочетании с ингибиторами иммунных контрольных точек Пембролизумабом [Curti B. D. et al., 2021]. Известно, что Gal-3 уменьшает связывание ингибиторов контрольных точек (ИКТ) Пембролизумаба (анти-PD-1) и Атезолизумаба (анти-PD-L1), потенцируя тем самым взаимодействие между PD-1/PD-L1. Высокоселективный ингибитор Gal-3 (GB1211) восстанавливает взаимодействие ИКТ с соответствующими мишенями, благодаря чему

комбинированная терапия «Атезолизумаб + GB1211» приводит к снижению роста опухоли в сингенной модели *in vivo* и увеличению числа инфильтрирующих опухоль Т-лимфоцитов. Безопасность и эффективность GB1211 в комбинации с Атезолизумабом в настоящий момент исследуется у пациентов с немелкоклеточным раком легкого [Mabbitt J. et al., 2023]. Использование анти-галектин-3 антител типа mAb (B2C10) способствует секреции IFN γ стимулируемыми CD8⁺ TILs (опухоль-инфильтрирующими лимфоцитами) [Demotte N. et al., 2010]. Галектин-9 *in vitro* снижает продукцию IFN γ и IL-17, увеличивает секрецию TGF β , модулируя тем самым субпопуляционный состав Th1, Th17 и Treg, что облегчает острую реакцию «трансплантат против хозяина». Возможно, данный эффект реализуется через сигнальный путь PI3K/АКТ/mTOR [Pang N. et al., 2024]. Использование моноклональных антигалектин-9-антител (RG9-1) в сочетании с агонистом к костимулирующему рецептору GITR (glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor-related protein) продемонстрировало избирательное увеличение количества внутриопухолевых TIM-3⁺ (T-cell immunoglobulin mucin-3) цитотоксических CD8⁺ Т-клеток и истощение Treg на мышинных моделях аденокарциномы толстого кишечника [Yang R. et al., 2021]. Также были зарегистрированы два других антигалектин-9 mAb (Gal-Nab1 и Gal-Nab2), защищающих Т-лимфоциты от галектин-9-опосредованного апоптоза [Lhuillier C. et al., 2018]. Продемонстрирована эффективность ингибитора галектина-9, объединенного с анти-TIM-3 моноклональным антителом, в комбинации с таксанами в лечении рака молочной железы [de Mingo Pulido Á. et al., 2018]. Блокада галектина-9 предотвращала самообновление клеток острого миелоидного лейкоза человека в ксеногенной опухоли [Kikushige Y. et al., 2015]. Наконец, в настоящее время безопасность антигалектин-9 mAb (Lyt-200) изучается в клиническом исследовании II фазы у пациентов с рецидивирующими/рефрактерными метастатическими солидными опухолями в сочетании с химиотерапией или анти-PD-1 антителами [Ko F. S. et al., 2023].

Доказан противоопухолевый эффект ингибитора галектина-1 при раке мочевого пузыря, заключающийся в апоптозе опухолевых клеток,

экспрессирующих данный лектин на своей поверхности [Pereira P. M. et al., 2016]. Помимо этого, блокада галектина-1 (Clone 25C1; Novo Castra) значительно снижает ингибирующий эффект *in vitro* CD4⁺CD25⁺ Treg человека и мыши [Garín M. I. et al., 2007]. Другой ингибитор Gal-1 показал увеличение внутриопухолевой инфильтрации Т-клетками, что приводило к повышению эффективности анти-PD1 терапии. Вероятно, это связано с тем, что галектин-1 способствует трансформации опухолевого эндотелия в иммуносупрессивный барьер [Nambiar D. K. et al., 2019]. Обработанные ингибитором Gal-1 (AP-74 M-545) мышинные модели опухоли демонстрируют увеличение содержания CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток в опухолевых тканях, снижение интенсивности CD45-ассоциированного апоптоза Т-клеток. Это свидетельствует о том, что блокирование взаимодействия между Gal-1 и CD45 спасает Т-клетки от апоптоза и восстанавливает клеточно-опосредованный иммунитет [Tsai Y. T. et al., 2019]. Согласно данным литературы, вопрос о влиянии ингибиторов галектина-1 на ключевые субпопуляции Th1, Th17 и Treg при раке толстого кишечника остается малоизученным.

Таким образом, на основании данных литературы можно заключить, что галектин-1 способен выступать в качестве промотера опухолевого процесса за счет активного участия в ключевых этапах злокачественной трансформации клеток. Тем не менее, его значение в канцерогенезе рака толстого кишечника остается неоднозначным. В научных публикациях существуют противоречия касаясь роли галектина-1 в регуляции противоопухолевого иммунитета. Остается неизвестным влияние полиморфных вариантов *LGALS1* на течение опухолевого процесса и предрасположенность к возникновению ЗНО толстого кишечника.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Клиническая характеристика обследованных пациентов

Научно-исследовательская работа выполнена в научно-образовательной лаборатории молекулярной медицины на базе кафедры патофизиологии (заведующий кафедрой – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН О.И. Уразова) и Центральной научно-исследовательской лаборатории (руководитель – д-р. мед. наук, профессор РАН Е.В. Удут) ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, отделении клиничко-диагностической лаборатории (заведующий – д-р мед. наук А.И. Дмитриева) и патологоанатомическом отделении (заведующий – Л.Э. Ерендеева) ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер» («ТООД») (главный врач – канд. мед. наук, доцент М.Ю. Грищенко).

В исследование включены пациенты (84 человека) с диагнозом рака толстого кишечника (РТК) (код по МКБ С18-С20) – 38 мужчин и 46 женщин (средний возраст $62,3 \pm 5,3$ года). Пациенты находились на диспансерном учете в ОГАУЗ «ТООД» (г. Томск) и НИИ онкологии Томского НИМЦ. В группу сравнения вошли 49 пациентов с тубулярными и тубуло-ворсинчатыми аденомами толстого кишечника (АТК) – 22 мужчины и 27 женщин (средний возраст $62,9 \pm 6,0$ лет). Контрольную группу составили 70 здоровых добровольцев – 34 мужчины и 36 женщин (средний возраст $62,3 \pm 7,2$ года).

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России №8514/1 от 08.12.2020 г. Пациенты, включенные в исследование, подписали добровольное информированное согласие.

Помощь в наборе пациентов оказывали врачи-онкологи ОГАУЗ «ТООД» и НИИ онкологии Томского НИМЦ: А.В. Августинович, Д.И. Азовский, А.В. Ардеева, Н.В. Асаева, Т.Р. Буга, Е.С. Дроздов, Л.Е. Дунаева, В.Г. Круглов, Ю.В. Мельниченко, С.В. Паталяк, Г.Е. Петухов, Л.Е. Синянский, В.О. Тараканова, М.Н. Тарасов, Д.А. Шкатов.

Диагноз колоректального рака был верифицирован на основании

патоморфологического исследования биоптатов толстого кишечника и клинико-инструментальных методов обследования (компьютерной и магниторезонансной томографии, колоноскопии, кала на скрытую кровь).

Исследование морфологии новообразования и отнесение его к определенному гистологическому типу было выполнено в патологоанатомическом отделении ОГАУЗ «ТООД» с участием врачей-патологоанатомов – д-ров мед. наук И.Л. Пурлика и Г.Г. Шимончука. Морфологический материал был взят до проведения специального противоопухолевого лечения.

Для стадирования опухолевого процесса использовали международную классификацию по системе TNM (8 Edition AJCC, 2017 г.). Распространение первичной опухоли (T) соответствовало T1, T2 у 23 (27,4 %) пациентов, T3, T4 – у 61 (72,6 %) пациента. Регионарные метастазы (N1, N2) были диагностированы у 45 (53,6 %) пациентов, отдаленные (M1) – у 12 (14,3 %) человек.

Подразделение злокачественных новообразований толстого кишечника на гистологические типы выполняли в соответствии с действующей «Международной гистологической классификацией» (ВОЗ, 2019). У всех пациентов была верифицирована аденокарцинома кишечного типа без дополнительного уточнения (8140/3). Для определения степени дифференцировки опухоли использовали «Клинические рекомендации по диагностике и лечению опухолей» [Ассоциация онкологов России, 2022]. К высокодифференцированным (G1) отнесли опухоли с содержанием железистых структур 96-100 %; к умереннодифференцированным (G2) – 50-95 % эпителиальных элементов инвазивной опухоли представлено железистыми структурами; к низкодифференцированным (G3) – 0-49 % эпителиальных элементов опухоли представлено железистым компонентом.

Согласно данным морфологического исследования, у 63 (75,0 %) пациентов с колоректальным раком была диагностирована аденокарцинома низкой степени злокачественности (low grade) с высокой и умеренной степенью дифференцировки клеток (G1, G2), у 21 (25,0 %) больных – аденокарцинома высокой степени злокачественности (high grade) с дифференцировкой клеток низкой степени (G3).

Материалом исследования служили фрагменты толстой кишки, полученные

при операционном вмешательстве, у больных РТК и АТК, а также цельная периферическая кровь, полученная из локтевой вены у пациентов с РТК и здоровых доноров (группа здоровья II-IIIa). Критериями исключения пациентов из исследования были: предоперационная лучевая терапия и химиотерапия, новообразования других локализаций, хронические инфекционные, аллергические, аутоиммунные заболевания в стадии обострения, а также отказ от участия в исследовании.

Оценку экспрессии галектина-1 в опухолевой ткани проводили на парафиновых срезах методом иммуногистохимии. В группу больных РТК вошли 55 пациентов, в группу сравнения – 49 пациентов с аденомой толстого кишечника. Измерение концентрации галектина-1 в плазме крови осуществляли методом твердофазного иммуноферментного анализа согласно инструкциям производителя тест-систем. Для этого в основную группу вошли 26 больных раком толстого кишечника, группу контроля составили 17 здоровых добровольцев. Для оценки аллельного полиморфизма гена галектина-1 во взаимосвязи с клинико-морфологическими параметрами опухолевого процесса использовали полимеразную цепную реакцию и анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов. Материалом служила периферическая кровь, полученная от больных раком толстого кишечника (70 образцов) и здоровых добровольцев в аналогичном количестве.

Сокультивирование *in vitro* клеточной линии COLO 201 проводили с моноклеарами, выделенными из периферической крови больных раком толстого кишечника (n=8) и здоровых доноров (n=8). Концентрацию цитокинов (IFN γ , IL-17A, TGF β) и мРНК транскрипционных факторов дифференцировки Th1, Th17 и Treg в сокультуре с добавлением и без добавления ингибитора галектина-1 измеряли с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) и полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) соответственно (Таблица 1).

Таблица 1 – Распределение здоровых добровольцев и пациентов с доброкачественными и злокачественными опухолями толстого кишечника в зависимости от методов исследования

Методы исследования	Группы обследованных лиц		
	Здоровые добровольцы	Пациенты с раком толстого кишечника	Пациенты с аденомами толстого кишечника
1	2	3	4
Оценка экспрессии галектина-1 в опухолевой ткани методом иммуногистохимии	-	55	49
Определение концентрации галектина-1 в периферической крови методом ИФА	17	26	-
Оценка клинико-морфологических параметров опухолевого процесса (инвазия, степень дифференцировки, наличие регионарных и отдаленных метастазов) в зависимости от уровня экспрессии галектина-1 в плазме и опухоли	-	26	-
Выделение мононуклеаров на градиентеплотности Ficoll-Paque с помощью градиентного центрифугирования с последующим культивированием	8	8	-
Сокультивирование клеточной линии COLO 201 с мононуклеарными лейкоцитами	8	8	-
Определение концентрации $IFN\gamma$, IL-17A и $TGF\beta 1$ при различных условиях культивирования COLO 201 и мононуклеарных лейкоцитов периферической крови больных раком толстого кишечника и здоровых добровольцев с помощью ИФА	8	8	-

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4
Определение уровней экспрессии мРНК транскрипционных факторов T-bet, RORC2 и FoxP3 при различных условиях культивирования COLO 201 и мононуклеарных лейкоцитов периферической крови больных раком толстого кишечника и здоровых добровольцев с помощью ПЦР в режиме реального времени	8	8	-
ПДФ-анализ: оценка полиморфных вариантов rs4820293 и rs4820294 гена <i>LGALS1</i>	70	70	-
Оценка взаимосвязи между генотипами однонуклеотидных полиморфизмов rs4820293 и rs4820294 гена <i>LGALS1</i> и клинико-морфологическими параметрами опухолевого процесса	-	70	-
Оценка взаимосвязи между опухолевой экспрессией галектина-1 и генотипами полиморфных вариантов гена <i>LGALS1</i> у больных РТК	-	55	-
Оценка взаимосвязи между плазменной концентрацией галектина-1 и генотипами полиморфных вариантов гена <i>LGALS1</i> у больных РТК	-	26	-

2.2 Материал исследования

В исследовании использовались фрагменты толстой кишки, полученные от

пациентов, перенесших оперативное вмешательство по поводу рака и аденом толстого кишечника. Образцы фиксировали в формалине и заливали в парафин. Изготовленные на микротоме серийные срезы окрашивали гематоксилин-эозином, после чего проводили гистологическую верификацию образований. Все этапы подготовки материала, включая иммуногистохимическое исследование, выполнены в патологанатомическом отделении ОГАУЗ «ТООД» (заведующий – Л.Э. Ерендеева). Взятие периферической крови пациентов и здоровых доноров (группа здоровья II-IIIa) осуществлялось утром натощак в количестве 8 мл. В качестве стабилизатора использовался ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота). Для культивирования клеток использовали полную питательную среду, состоящую из 90 % RPMI-1640 (Elabscience, США), 10 % эмбриональной телячьей сыворотки (Thermofisher Scientific, США) и 50 мкг/мл гентамицина (ПанЭко, Россия). Клеточная линия аденокарциномы толстого кишечника человека COLO 201 (CCL-224) была приобретена в Американской коллекции типовых культур (ATCC, США).

2.3 Методы исследования

2.3.1 Оценка экспрессии галектина-1 в опухолевой ткани толстого кишечника

Оценку экспрессии галектина-1 в опухолевой ткани осуществляли на парафиновых срезах методом иммуногистохимии с применением антител фирмы «GeneTex» к галектину-1 (поликлональные, рабочее разведение 1:500, кроличьи). Исследование проводилось с помощью автоматизированной системы для иммуногистохимического окрашивания и *in situ* гибридизации «Bond-maX» («Leica Biosystems», Германия). Срезы докрашивали гематоксилином и заключали в канадский бальзам.

Принцип метода. Образцы опухолевой ткани толстого кишечника были

фиксированы раствором 10 % формалина с целью сохранения антигенных свойств ткани и залиты парафином. Морфологический анализ проводили на срезах толщиной 5-7 мкм. Подготовленные парафиновые срезы для иммуногистохимии были предварительно депарафинизированы (замещение на водную составляющую) и демаскированы с помощью буферов в водяной бане для восстановления антигенной активности. Для определения точной локализации экспрессируемого белка (антигена) в образце опухолевой ткани использовались специфические антитела, маркированные флуорохромами. Эндогенные молекулы (пероксидаза, щелочная фосфатаза) были блокированы во избежание неспецифического связывания реагентов с тканевыми компонентами перед нанесением первичного реагента. Образцы последовательно инкубировались с первичными (специфичными к искомому антигену) и вторичными антителами. На завершающем этапе проводилась обработка препарата хромогеном и детекция экспрессируемого галектина-1 с применением светового микроскопа Leica DM2000 («Leica Microsystems», Германия) при увеличении $\times 400$.

Ход работы. Цитоплазматическая и мембранная экспрессия галектина-1 в образцах опухолевой ткани оценивалась в «горячих точках» – местах с наиболее выраженной экспрессией лектина

Количество положительно окрашенных клеток выражали в процентах (подсчитывали не менее 300 клеток).

2.3.2 Определение концентрации галектина-1 плазме крови

Для определения концентрации галектина-1 в плазме крови использовали метод твердофазного иммуноферментного анализа «сэндвич»-типа.

Принцип метода базируется на выявлении антигенов с помощью соответствующих им антител, конъюгированных с ферментом-меткой. Моноклональные антитела сорбированы в лунках микропланшета. После добавления образца, содержащего антиген, на поверхности «твердой фазы»

образуются иммунные комплексы «антиген-антитело». После отмывки добавляют детектирующие моноклональные антитела с ферментом-меткой, направленные к другому эпитопу антигена. В результате образуются тройные комплексы – «сэндвичи». Для визуализации этих комплексов добавляют субстрат фермента, который придает цветную реакцию; интенсивность окрашивания регистрируется на спектрофотометре. При этом интенсивность реакции пропорциональна концентрации определяемого антигена в инкубационной смеси. Путем сравнения интенсивности окрашивания калибровочной кривой с интенсивностью окрашивания в анализируемом образце определяют концентрацию тестируемого антигена.

Ход работы. Для количественной оценки содержания галектина-1 в плазме методом иммуноферментного анализа использовали набор реагентов «Human Galectin-1 PicoKine ELISA Kit» («BosterBio», США) согласно инструкции производителя. Плазму получали из венозной крови, собранной в пробирки с антикоагулянтом ЭДТА, путем центрифугирования при 2000 g в течение 15 мин при температуре +4 °С. Полученную плазму аликвотировали и замораживали при -80 °С до момента проведения ИФА. Перед использованием все реагенты были комнатной температуры, съемные 8-луночные стрипы – пронумерованы. В лунки микропланшета вносили по 100 мкл стандартов и анализируемых образцов. Инкубацию проводили в течение 150 мин при температуре 23 °С. После удаления раствора из лунок и их 4-кратной промывки с помощью буфера в каждую лунку добавляли по 100 мкл приготовленных биотинилированных антител. Инкубировали микропланшет в течение 60 мин, затем удаляли раствор из лунок и 4-кратно промывали лунки. После этого в лунки добавляли предварительно разведенный авидин-биотин-пероксидазный комплекс в объеме 100 мкл и инкубировали в течение 45 мин при комнатной температуре с последующей пятикратной отмывкой. Затем в каждую лунку вносили 100 мкл раствора тетраметилбензидина (ТМВ) и инкубировали 30 мин при комнатной температуре. По завершении инкубации для остановки реакции в пробы вносили 50 мкл стоп-раствора и немедленно считали абсорбцию содержимого ячеек планшета при длине

волны 450 нм с использованием фотометра для микропланшетов «Multiscan EX» («ThermoLabSystems», Финляндия).

Концентрацию галектина-1 определяли по калибровочной кривой, результат выражали в нг/мл.

2.3.3 Выделение мононуклеарных лейкоцитов из цельной крови с последующим культивированием в питательной среде

Принцип метода основан на разделении клеточных элементов крови по плотности при центрифугировании в градиенте Ficoll-Paque (ПанЭко, Россия).

Ход работы. Свежевыделенная венозная кровь в объеме 5 мл помещалась в пробирку с антикоагулянтом ЭДТА, после чего перемешивалась и разбавлялась раствором Хенкса в соотношении 1:1. С помощью пипетки аккуратно наслаивали разбавленную кровь на градиент Ficoll-Paque с удельной плотностью 1,077 г/см³ в соотношении 1:2 и центрифугировали при 300 g в течение 20 мин при комнатной температуре 23 °С. В результате центрифугирования кровь разделялась на несколько фракций: на дне пробирки оставались эритроциты, тромбоциты и зернистые лейкоциты, вторая фракция была представлена градиентом Ficoll-Paque, над которым располагалась плазма крови. На границе между плазмой крови и раствором фиколла-урографина прослеживалась суспензия в виде кольца, представленная лимфоидными клетками. Тонкий слой мононуклеаров отбирали пипеткой в чистую пробирку и отмывали средой RPMI-1640 (ЗАО «Вектор», Россия). Содержимое пробирки центрифугировали 10 мин при 300 g, после чего последовательно удаляли надосадочную жидкость и ресуспендировали полученный осадок. Описанный выше метод повторяли трехкратно для отмывки осадка мононуклеаров. Далее подсчитывали количество клеток в камере Горяева и определяли жизнеспособность мононуклеаров с помощью 0,4 % раствора трипанового синего (краситель не проникает через мембрану живых клеток). Количество клеток в суспензии стандартизировали до 1×10^6 /мл.

Мононуклеарные лейкоциты культивировали в специальных культуральных планшетах в питательной среде, состоящей из 90 % RPMI-1640 (Elabscience, США), 10 % эмбриональной телячьей сыворотки (Thermofisher Scientific, США) и 50 мкг/мл гентамицина (ПанЭко, Россия), при температуре 37 °С и 5 % CO₂ в CO₂-инкубаторе в течение 72 ч. Для получения супернатантов культуральной суспензии пробирки с полученной культурой центрифугировали в течение 10 мин 300 g. Хранение супернатантов мононуклеарных лейкоцитов осуществляли в эпендорфах при температуре -80 °С.

2.3.4 Сокультивирование клеточной линии COLO 201 с мононуклеарными лейкоцитами периферической крови

Ход работы. Сокультивирование мононуклеарных лейкоцитов больных раком толстого кишечника или здоровых доноров и клеточной линии COLO 201 (ATCC, США), для которой характерна базальная экспрессия галектина-1, проводили в 24-луночных трансвелл-планшетах, оснащенных полупроницаемыми мембранами (Sigma-Aldrich, США). В верхние камеры планшетов высаживали мононуклеарные лейкоциты (в количестве 4×10^5), клетки COLO 201 (в количестве 2×10^5) помещали на нижние камеры планшетов. Диаметр пор мембран составлял 0,4 мкм, что ограничивало контактное взаимодействие клеток в сокультуре, но не препятствовало диффузии низкомолекулярных соединений через поры, в том числе галектина-1. Для стимуляции митоза и цитокин-секреторной активности Т-клеток в верхние камеры трансвеллов вносили 10 мкг/мл фитогемагглютинаина-II (ПанЭко, Россия). Сокультивирование клеток осуществляли с использованием полной питательной среды RPMI-1640 с добавлением 10% фетальной телячьей сыворотки (Thermofisher Scientific, США) и 50 мкг/мл гентамицина (ПанЭко, Россия). Клетки культивировали следующим образом: культура мононуклеарных лейкоцитов, интактная сокультура клеток аденокарциномы толстого кишечника COLO 201 с мононуклеарными лейкоцитами, а также сокультура с добавлением селективного

ингибитора галектина-1 ОТХ008 (Axon Medchem, Нидерланды), рабочая концентрация – 2 мкМ. Культивирование проводили в CO₂-инкубаторе при температуре 37 °С в газовой смеси, содержащей 5 % CO₂, в течение 72 ч. После этого среду с моноклеарами из верхних камер трансвелл-планшетов переносили в пробирки с целью последующего центрифугирования в течение 10 мин при 300 g. Из осажденных клеток выделяли РНК, а в полученных супернатантах клеточных культур определяли концентрацию цитокинов. Для нивелирования индивидуальной вариабельности каждый эксперимент (для каждого биологического образца пациента и здорового донора) воспроизводили троекратно. По результатам измерений в трех параллельных лунках/сокультурах рассчитывали среднее значение.

2.3.5 Определение концентрации цитокинов IFN γ , IL-17A и TGF β 1 в супернатантах сокультуры клеточной линии COLO 201 с моноклеарными лейкоцитами периферической крови

Принцип метода основыван на измерении концентрации исследуемых цитокинов в супернатантах с помощью иммуноферментного анализа.

Ход работы. В супернатантах, полученных в процессе сокультивирования COLO 201 с моноклеарами, определяли концентрацию интерферона (IFN) γ , интерлейкина (IL) 17A и трансформирующего фактора роста (TGF) β 1. Для этого использовали ИФА-наборы Human IFN- γ ELISA Kit, Human IL-17A ELISA Kit и Human TGF- β 1 ELISA Kit (FineTest, Китай) согласно инструкции производителя.

Оптическую плотность содержимого ячеек планшета определяли с использованием анализатора Multiscan EX (Thermo Electron, Германия) при длине волны 450 нм.

2.3.6 Определение уровня экспрессии мРНК генов транскрипционных факторов T-bet, RORC2 и FoxP3 в моноклеарных лейкоцитах

периферической крови

Принцип метода. Оценка экспрессии генов транскрипционных факторов по уровню мРНК в мононуклеарных лейкоцитах при помощи ПРЦ в режиме реального времени.

В ходе работы производили выделение РНК из мононуклеарных лейкоцитов сорбентно-колоночным методом с применением набора RNeasy Plus Mini Kit согласно инструкции производителя (QIAGEN, Германия). Для синтеза комплементарной ДНК (кДНК) на матрице РНК использовали комплект реагентов для проведения обратной транскрипции РЕВЕРТА-L (AmpliSens, Россия). Синтезированную кДНК амплифицировали методом ПЦР в режиме реального времени с применением интеркалирующего флуоресцентного красителя SYBR Green I (Евроген, Россия) на амплификаторе CFX96 Touch (Bio-Rad, США). В качестве референсного гена использовали ген β -актина. ПЦР-РВ проводили в режиме: денатурация при 95 °С в течение 5 мин с последующими 40 циклами амплификации в следующем режиме – плавление при 95 °С в течение 20 с, отжиг при 55 °С в течение 30 с, элонгация при 72 °С в течение 30 с.

С помощью метода $\Delta\Delta C_t$ определяли относительное количество кДНК в образце. Результаты выражали в относительных единицах: отношение порогового цикла амплификации (C_t) исследуемого гена к пороговому циклу амплификации β -актина.

2.3.7 Оценка полиморфизма гена галектина-1

Принцип метода основывается на анализе нуклеотидной последовательности мелких фрагментов ДНК – рестриктов, которые получают при «разрезании» ДНК посредством эндонуклеаз. ПДРФ-анализ является вариантом секвенирования ДНК. В данной работе ПДРФ-анализ, наряду с полимеразной цепной реакцией, использовали для оценки полиморфных вариантов

гена галектина-1 (rs4820293 и rs4820294).

Ход работы. На первом этапе была произведена изоляция ДНК с помощью набора QIAamp DNA Blood Mini Kit согласно инструкции производителя. Чистоту изоляции ДНК определяли с помощью спектрофотометра. Генетический материал обогащался Taq-полимеразами, праймерами и нуклеотидами. Первым этапом была произведена денатурация двуцепочечной ДНК при температуре 96 °С с целью формирования одноцепочечной матрицы. Вторым этапом был произведен отжиг – снижение температуры до 60 °С с целью связывания праймеров на участках одноцепочечной матрицы. Завершающим этапом ПЦР была выполнена элонгация при температуре 72 °С, в результате которой Taq-полимеразы производят копии цепей ДНК. Затем этапы повторялись 30 раз. Амплифицированные в ходе ПЦР-исследования фрагменты ДНК обогащались рестрикционными ферментами. После этого производилась их инкубация в течение 2,5 ч с последующей тепловой инактивацией в течение 10 мин в сухой ванне (dry bath). Следующим этапом был использовали электрофорез в агарозном геле с последующей оценкой полиморфизма гена галектина-1 *LGALS1*.

Полученные в процессе полимеразной цепной реакции фрагменты ДНК подвергались гидролизу эндонуклеазами рестрикции BseSI Fast Digest (Thermo Fisher Scientific, США). Для приготовления реакционной смеси в каждую пробирку добавляли 0,5 мкл фермента рестрикции, 1 мкл буфера FastDigest, 8,5 мкл деионизированной воды и 5 мкл амплифицированной ДНК. После этого пробы инкубировали при температуре 37 °С в течение 2,5 ч. Молекулярную массу получившихся продуктов устанавливали с помощью горизонтального электрофореза в агарозном геле. Для приготовления геля использовали 1,2 г агарозы, 2,4 мл буфера 50X TAE (трис-ацетатный буфер с ЭДТА) и 120 мл деионизированной воды. Затем гель нагревали в микроволновой печи для полного растворения агарозы, после его остывания добавляли 5 мкл этидий бромид. В последующем гель заливали в кювету для электрофореза, для формирования лунок использовали гребенки. Через 20 мин застывший гель переносили в камеру для электрофореза и заливали 1X TAE буфером, объема которого было достаточно для

заполнения камеры. В первую лунку геля вносили 5 мкл маркера молекулярного веса, в остальные – по 10 мкл образцов ПДРФ-анализа с буфером для утяжеления. Электрофорез проводили при градиенте напряженности 1-10 В на 1 см геля. По истечении 30 мин результаты электрофореза визуализировали в ультрафиолетовом свете с помощью УФ-трансиллюминатора с последующей оценкой полиморфизма гена *LGALS1*.

Размер продуктов составил 220 и 250 п. н. для rs4820293 и rs4820294 соответственно. После завершения рестрикции детектировались генотипы *GG*, *AA*, *GA*.

2.3.8 Статистический анализ результатов

Статистическую обработку полученных результатов проводили с применением программы «Statistica for Windows» Version 12.0 («StatSoft Inc.», США). Для проверки соответствия распределения количественных признаков нормальному закону использовали критерий Шапиро-Уилка. Для количественные параметров, не соответствующих закону нормального распределения, вычисляли медиану (*Me*) и 25-й и 75-й перцентили. С целью сравнительного анализа выборочных данных, имеющих ненормальное распределение, применяли непараметрический *U*-критерий Манна-Уитни (для независимых выборок). Для выявления взаимосвязей двух количественных показателей вычисляли ранговый коэффициент корреляции Спирмена. Распределение генотипов по исследованным полиморфным вариантам гена *LGALS1* проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга. Для сравнения основной и контрольной групп по частоте генотипов и аллелей полиморфных вариантов rs4820293 и rs4820294 гена *LGALS1* использовали критерий χ^2 Пирсона. Для подтверждения связи генетического полиморфизма с РТК рассчитывали величину отношения шансов (*OR*). Об отсутствии связи между признаками судили по *OR*=1, об отрицательной связи – по *OR* менее 1, о положительной связи – по *OR* более 1. Для установления связи между

номинальными данными, характеризующими клинико-морфологические признаки опухолевого процесса, и генетическим полиморфизмом рассчитывали коэффициент корреляции V Крамера. Для множественных сравнений использовали непараметрический тест Фридмана и апостериорный тест Данна. Результаты статистического анализа считали значимыми при уровне $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Внутриопухолевая экспрессия и плазменная концентрация галектина-1 при раке и аденомах толстого кишечника

По результатам оценки экспрессии галектина-1 в ткани с помощью метода иммуногистохимии нами было установлено, что для данного лектина характерна как цитоплазматическая, так и мембранная экспрессия во всех исследуемых образцах у пациентов с аденомами и раком толстого кишечника (Рисунок 1).

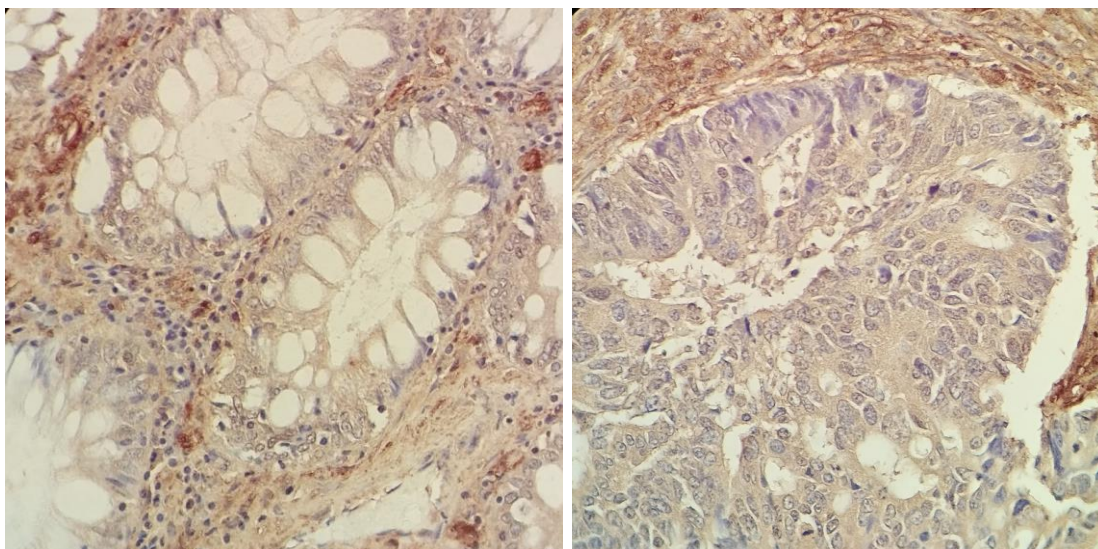


Рисунок 1 – Гистологический препарат аденокарциномы толстого кишечника.

Цитоплазматическая и мембранная экспрессия галектина-1.

Иммуногистохимическая реакция с докраской гематоксилином.

Увеличение $\times 200$.

Процентное содержание галектин-1-позитивных клеток в ткани опухоли у больных РТК оказалось более чем в 2 раза выше, чем у больных с АТК (23 (11-41) % против 11 (8-19) %, $p=0,001$) (Рисунок 2).

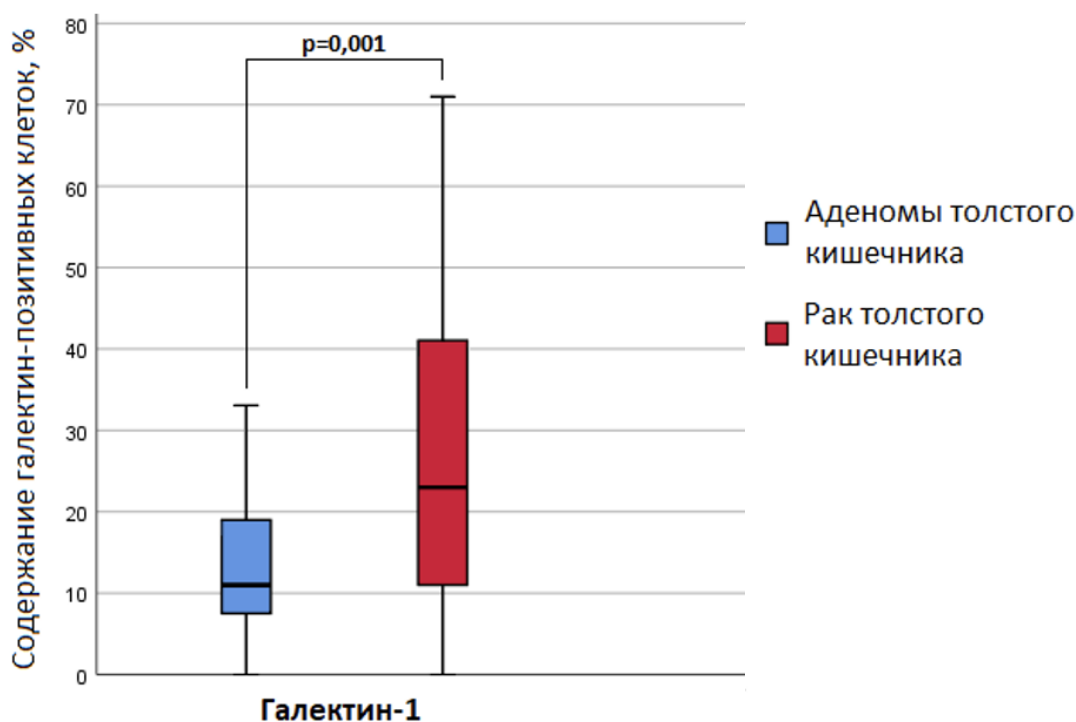


Рисунок 2 – Относительное содержание галектин-1-позитивных опухолевых клеток (%) у пациентов с раком и аденомами толстого кишечника

Плазменная концентрация галектина-1 в крови у больных РТК составляла 16,2 (15,4-17,2) нг/мл и была выше ($p=0,003$), чем у здоровых доноров (содержание галектина-1 в плазме составило 13,75 (12,6-14,8) нг/мл) (Рисунок 3). Кроме того, высокое содержание галектина-1 в плазме крови у пациентов с РТК коррелировало с относительным содержанием галектин-1-экспрессирующих клеток в опухоли (коэффициент корреляции $r=0,59$; $p=0,002$).

3.2. Плазменная концентрация и опухолевая экспрессия галектина-1 у больных раком толстого кишечника во взаимосвязи с клинико-морфологическими параметрами опухолевого процесса

С целью определения роли галектина-1 в качестве прогностического фактора течения опухолевого процесса, нами была проанализирована взаимосвязь между

концентрацией галектина-1 в опухоли и плазме крови с клиничко-морфологическими параметрами опухолевого процесса, такими как: степень дифференцировки (G) и размер первичной опухоли (T), наличие очагов регионарного (N) и отдаленного метастазирования (M) (Таблица 2). Данные параметры оценивались по международной TNM классификации (7 Edition AJCC, 2009 г.).

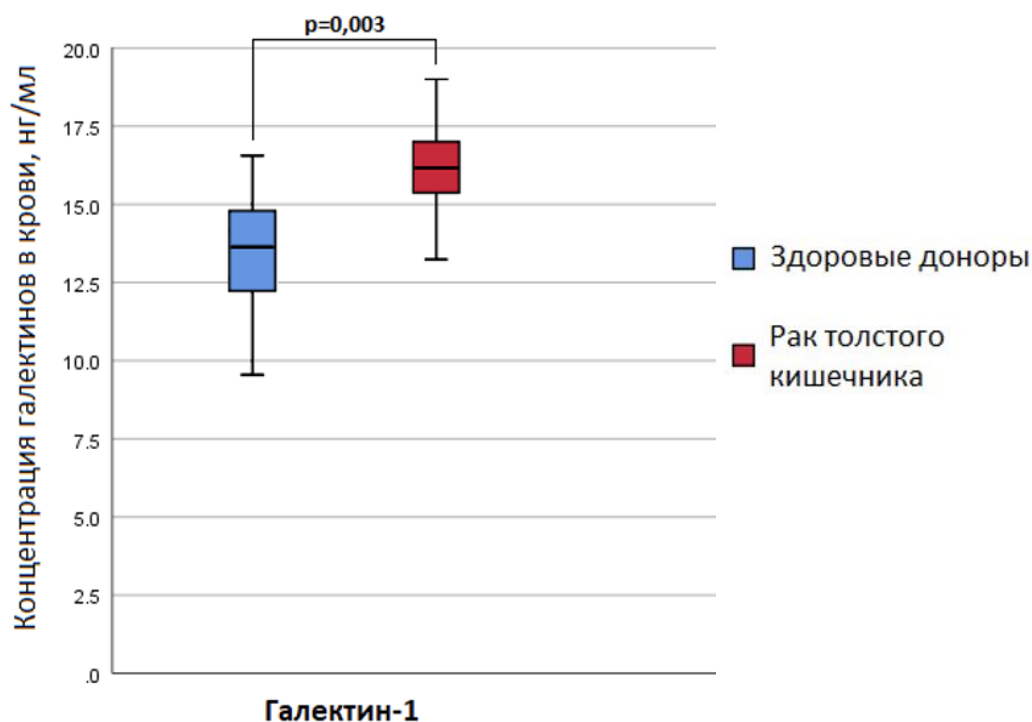


Рисунок 3 – Концентрация галектина-1 в плазме периферической крови (нг/мл) у больных раком толстого кишечника

Согласно результатам сравнительного анализа, у больных РТК с большим размером первичной опухоли (T3, T4) были достоверно выше как плазменная концентрация ($p=0,006$), так и опухолевая экспрессия ($p=0,032$) галектина-1, нежели аналогичные параметры у больных с аденокарциномами толстого кишечника меньшего размера (T1, T2) (Таблица 2).

Таблица 2 – Плазменная концентрация (нг/мл) и опухолевая экспрессия (% позитивных клеток) галектина-1 у больных раком толстого кишечника в зависимости от клинико-морфологических характеристик опухоли, Me (Q₁-Q₃)

Содержание галектина		Степень инвазии опухоли		Степень дифференцировки опухоли		Регионарные метастазы	
		T1, T2	T3, T4	Высокая и умеренная	Низкая	N0	N1, N2
Галектин-1	В опухоли (% опухолевых клеток)	13,0 (9,0-19,0)	27,0 (15,0-45,0) p=0,032	20,0 (8,0-41,0)	23,0 (15,0-38,0)	20,0 (9,0-32,0)	38,0 (23,0-55,0) p=0,006
	В крови (нг/мл)	14,83 (13,10-15,84)	16,68 (15,72-17,88) p=0,006	15,58 (14,31-16,83)	17,01 (16,09-19,26)	14,90 (13,17-16,01)	16,59 (16,13-19,00) p=0,023

Примечание. p – уровень статистической значимости межгрупповых различий.

В случае больных РТК с регионарными метастазами (N1, N2) содержание галектина-1 в опухоли (p=0,006) и плазме (p=0,023) было достоверно выше, чем у пациентов с РТК без метастатических очагов в регионарных лимфоузлах (N0) (Таблица 2).

Кроме того, у больных РТК с отдаленными метастазами (M1) содержание галектина-1 в периферической крови составило 18,10 (16,90-19,00) нг/мл, что оказалось в 1,2 раза (p=0,023) выше, чем у пациентов с РТК без очагов отдаленного метастазирования (15,84 (14,35-16,59) нг/мл).

Взаимосвязь между опухолевым и плазменным содержанием галектина-1 при РТК в зависимости от степени дифференцировки первичной опухоли не была статистически значимой (Таблица 2).

3.3. Ассоциация клинико-морфологических параметров опухолевого процесса с носительством полиморфных вариантов rs4820293 и rs4820294 гена галектина-1 у больных раком толстого кишечника

По результатам исследования аллельного полиморфизма гена галектина-1 (*LGALS1*) у больных РТК и здоровых доноров чаще встречался аллель *G* полиморфных вариантов rs4820293 и rs4820294 (Таблица 3).

Анализ распределения генотипов показал, что у пациентов с РТК при обоих вариантах полиморфизма (rs4820293 и rs4820294) преобладал гомозиготный генотип по аллелю *G* над гомозиготным генотипом *AA* и гетерозиготным генотипом *GA*. Частота встречаемости генотипов и аллелей соответствовала равновесию Харди-Вайнберга. Закономерность их распределения у здоровых носителей полиморфизма rs4820293 оказалась сопоставимой с таковой при РТК. В случае полиморфизма rs4820294 имелись различия, указывающие на его слабую связь с заболеванием ($p=0,037$). Однако расчет величины отношения шансов (OR) не подтвердил связь между генотипами и аллелями обоих полиморфных вариантов гена *LGALS1* с развитием РТК – нижняя и верхняя границы значений OR были менее и более 1 соответственно (Таблица 3).

Анализ взаимосвязи между генотипами однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) rs4820293 и rs4820294 гена *LGALS1* и клинико-морфологическими параметрами опухолевого процесса показал, что носительство полиморфного варианта rs4820294 ассоциировано с метастатическим поражением регионарных лимфатических узлов и дифференцировкой опухоли ($p<0,001$). Статистически значимая взаимосвязь между rs4820293 и клинико-морфологическими параметрами опухолевого процесса при РТК отсутствовала ($p>0,05$) (Таблица 4).

Таблица 3 – Распределение генотипов и аллелей полиморфных вариантов гена *LGALS1* у больных раком толстого кишечника (РТК) (абс., %)

Генотипы и аллели	Группы обследованных лиц		χ^2 ; P	OR [95% CI]
	Больные РТК	Здоровые доноры		
Однонуклеотидный полиморфизм <i>rs4820293</i>				
<i>AA</i>	16 (22,8)	15 (21,4)	0,534; 0,062	1,09 [0,49-2,41]
<i>GG</i>	34 (48,6)	31 (44,3)		1,18 [0,61-2,31]
<i>GA</i>	20 (28,6)	24 (34,3)		0,77 [0,38-1,56]
A	26 (37,1)	27 (38,6)	0,030; 0,862	0,94 [0,47-1,86]
G	44 (62,9)	43 (61,4)		
Однонуклеотидный полиморфизм <i>rs4820294</i>				
<i>GG</i>	32 (45,7)	31 (44,3)	0,189; 0,037	1,05 [0,54-2,06]
<i>AA</i>	12 (17,1)	14 (20,0)		0,83 [0,35-1,94]
<i>GA</i>	26 (37,2)	25 (35,7)		1,06 [0,53-2,11]
G	45 (64,3)	44 (62,9)	0,031; 0,861	0,94 [0,47-1,87]
A	25 (35,7)	26 (37,1)		

Примечание. χ^2 – значение критерия χ^2 Пирсона, P – уровень статистической значимости межгрупповых различий, OR – значение критерия отношения шансов, отражающее риск развития заболевания с 95% доверительным интервалом

Таблица 4 – Распределение генотипов полиморфных вариантов гена *LGALS1* у больных раком толстого кишечника (количество человек, абс.) в зависимости от клинико-морфологических параметров опухолевого процесса

Однонуклеотидный полиморфизм	Генотип	Т1-4		N0-2		M0-1		G1-3		
		2	4		2					
rs4820293	<i>AA</i>	5	11	10	9	12	2	5	19	2
	<i>GG</i>	6	28	11	20	28	7	2	22	2
	<i>GA</i>	4	16	4	16	18	3	4	11	3
V; P		0,133; 0,541		0,254; 0,104		0,076; 0,818		0,161; 0,458		
rs4820294	<i>GG</i>	5	27	6	29	26	6	5	9	6
	<i>AA</i>	2	10	3	9	9	4	6	9	1
	<i>GA</i>	8	18	16	7	23	2	0	34	0
V; P		0,175; 0,341		0,498 p<0,001		0,215; 0,199		0,455; p<0,001		

Примечание. V – значение критерия V Крамера, P – уровень статистической значимости связи номинальных данных: с размером опухоли (Т1–4), наличием/отсутствием метастазов в регионарных лимфоузлах (N0–2) и очагов отдаленного метастазирования (M0–1), степенью дифференцировки опухоли (G1–3)

3.4. Взаимосвязь плазменной и опухолевой экспрессии галектина-1 с генотипами полиморфных вариантов гена *LGALS1* у больных раком толстого кишечника

Опухолевая экспрессия галектина-1 у больных раком толстого кишечника не различалась в зависимости от генотипа однонуклеотидных полиморфизмов

rs4820293 и rs4820294 соответствующего гена ($p>0,05$) (Таблица 5).

Таблица 5 – Опухолевая экспрессия галектина-1 (% позитивных клеток) у больных раком толстого кишечника в зависимости от генотипа полиморфных вариантов гена *LGALS1*, Me (Q1-Q3)

Однонуклеотидный полиморфизм	Генотип	Галектин-1 ⁺ опухолевые клетки (%)
rs4820293	<i>AA</i>	21 (5-37)
	<i>GG</i>	22 (9-56)
	<i>GA</i>	21 (2-69)
rs4820294	<i>GG</i>	23 (7-44)
	<i>AA</i>	20 (10-51)
	<i>GA</i>	24 (9-71)

Концентрация галектина-1 в плазме крови в группе здоровых лиц с генотипом *GG* была значимо выше, чем при гомозиготном генотипе по аллелю *A* полиморфизма rs4820294 гена галектина-1 ($p=0,030$). При этом у здоровых доноров с гомозиготным генотипом *AA* данного полиморфного варианта плазменное содержание галектина-1 оказалось значимо ниже, чем у носителей того же генотипа с раком толстого кишечника ($p=0,040$) (Таблица 6).

Статистически значимых внутригрупповых различий концентрации галектина-1 в плазме периферической крови в зависимости от носительства определенного генотипа полиморфного варианта rs4820293 или rs4820294 гена *LGALS1* у больных РТК установить не удалось ($p>0,05$) (Таблица 6).

Таблица 6 – Концентрация галектина-1 в плазме крови (нг/мл) у больных раком толстого кишечника в зависимости от генотипа полиморфных вариантов гена *LGALS1*, Me (Q1- Q3)

Однонуклеотидный полиморфизм	Генотип	Концентрация галектина-1 в плазме крови (нг/мл)	
		Больные РТК	Здоровые доноры
rs4820293	<i>AA</i>	17,67 (14,37-20,05)	12,28 (12,26-14,05)
	<i>GG</i>	16,21 (15,28-18,72)	13,63 (13,28-14,45)
	<i>GA</i>	16,97 (14,57-18,92)	12,29 (12,23-14,52)
rs4820294	<i>GG</i>	15,43 (12,23-19,65)	14,93 (12,78-14,04) $p_1=0,030$
	<i>AA</i>	17,12 (13,45-20,75)	12,92 (12,89-14,51) $p_2=0,040$
	<i>GA</i>	15,84 (14,65-19,64)	13,95 (13,92-15,46)

Примечание. p_1 – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателем у носителей генотипа *AA* аналогичной группы, p_2 – со сходным генотипом у больных РТК

3.5 Влияние галектина-1 на экспрессию генов транскрипционных факторов T-bet, RORC2 и FoxP3 в условиях сокультивирования мононуклеарных лейкоцитов с клетками аденокарциномы толстого кишечника линии COLO 201 у больных раком толстого кишечника

В результате сокультивирования мононуклеарных лейкоцитов больных РТК с опухолевыми клетками линии COLO 201 было установлено снижение экспрессии генов (по содержанию мРНК) транскрипционных факторов T-bet (маркера дифференцировки Т-лимфоцитов-хелперов (Th) типа 1 (Th1)) в 3,4 раза ($p_0 < 0,001$)

и RORC2 (маркера дифференцировки Т-лимфоцитов-хелперов (Th) типа 17 (Th17)) в 6,4 раза ($p_0 < 0,001$) на фоне увеличения экспрессии гена *FoxP3* (маркера дифференцировки Т-регуляторных лимфоцитов с иммуносупрессивной активностью (Treg)) в 2,5 раза ($p_0 < 0,001$) в сокультуре в сравнении с соответствующими показателями, полученными при культивировании мононуклеарных лейкоцитов без клеток линии COLO 201 (Таблица 7).

Таблица 7 – Уровень мРНК генов транскрипционных факторов T-bet, RORC2 и FoxP3 (в относительных единицах – отн. ед.) при различных условиях сокультивирования COLO 201 с мононуклеарными лейкоцитами у больных раком толстого кишечника, Me (Q1-Q3)

Условия культивирования клеток	Содержание мРНК генов транскрипционных факторов (отн. ед.)		
	T-bet	RORC2	FoxP3
Монокультура лейкоцитов	4,13 (3,19-5,27)	1,78 (1,56-2,75)	2,49 (1,74-3,73)
Интактная сокультура лейкоцитов и COLO 201	1,23 (0,88-1,60) $p_0 < 0,001$	0,28 (0,23-0,39) $p_0 < 0,001$	6,25 (5,67-7,45) $p_0 < 0,001$
Сокультура с добавлением ингибитора галектина-1 ОТХ008	2,28 (1,81-2,58) $p_1 = 0,042$	1,71 (1,22-1,83) $p_1 < 0,001$	3,48 (2,86-4,11) $p_1 = 0,002$

Примечание. Здесь и далее в табл. 8-10: p_0 – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями монокультуры лейкоцитов, p_1 – по сравнению с показателями в интактной сокультуре.

Кроме того, мы проанализировали влияние ингибитора галектина-1 в сокультуре на экспрессию генов транскрипционных факторов ключевых субпопуляций CD4⁺ Т-лимфоцитов – Th1 (T-bet), Th17 (RORC2) и Treg (FoxP3). Так, согласно полученным данным, при добавлении ингибитора галектина-1 экспрессия генов транскрипционных факторов Th1- и Th17-клеток в сокультуре увеличивалась в 1,9 раза ($p_1=0,042$) до 2,28 (1,81-2,58) отн.ед. и в 6,1 раза ($p_1<0,001$) до 1,71 (1,22-1,83) отн.ед. соответственно. При этом присутствие ингибитора галектина-1 в сокультуре, напротив, приводило к снижению уровня мРНК гена *FoxP3* – транскрипционного фактора Treg – в 1,8 раза ($p_1=0,002$) до 3,48 (2,86-4,11) отн.ед. (Таблица 7).

Исследование экспрессии генов транскрипционных факторов дифференцировки CD4⁺ Т-лимфоцитов у здоровых доноров при сокультивировании их мононуклеарных лейкоцитов с линией COLO 201 показало, что уровень мРНК генов в сокультуре был ниже в 2,9 раза ($p_0<0,001$) для T-bet и в 2,7 раза ($p_0<0,001$) для RORC2, а в случае FoxP3 – значимо выше (в 2,2 раза, $p_0<0,001$) (Таблица 8).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что направление дифференцировки CD4⁺ Т-лимфоцитов у здоровых лиц в сокультуре с COLO 201 является аналогичным таковому у CD4⁺ Т-клеток пациентов с РТК и обусловлено влиянием злокачественных клеток.

При добавлении ингибитора галектина-1 в сокультуру субпопуляционный состав изменился следующим образом: экспрессия гена *T-bet* дифференцировки Th1-лимфоцитов увеличилась в 2,0 раза ($p_1<0,001$) до 3,99 (3,71-4,28) отн. ед., содержание мРНК гена транскрипционного фактора RORC2 Th17-лимфоцитов – в 2,1 раза ($p_1=0,002$) до 2,29 (1,84-2,73) отн.ед., а экспрессия гена *FoxP3* Treg-лимфоцитов уменьшилась в 1,8 раза ($p_1=0,033$) до 2,02 (1,36-2,75) отн.ед. (Таблица 8).

Таблица 8 – Уровень мРНК генов транскрипционных факторов T-bet, RORC2 и FoxP3 (в относительных единицах – отн. ед.) при различных условиях сокультивирования COLO 201 с мононуклеарными лейкоцитами у здоровых доноров, Me (Q1-Q3)

Условия культивирования клеток	Содержание мРНК генов транскрипционных факторов (отн. ед.)		
	T-bet	RORC2	FoxP3
Монокультура лейкоцитов	5,94 (4,89-6,71)	2,93 (2,39-3,78)	1,67 (1,18-1,86)
Интактная сокультура лейкоцитов и COLO 201	2,03 (1,30-2,33) $p_0 < 0,001$	1,07 (0,86-1,49) $p_0 < 0,001$	3,59 (3,03-4,25) $p_0 < 0,001$
Сокультура с добавлением ингибитора галектина-1 ОТХ008	3,99 (3,71-4,28) $p_1 < 0,001$	2,29 (1,84-2,73) $p_1 = 0,012$	2,02 (1,36-2,75) $p_1 = 0,033$

3.6 Влияние галектина-1 на секрецию IFN γ , IL-17A и TGF β 1 в сокультуре мононуклеарных лейкоцитов с клетками аденокарциномы толстого кишечника линии COLO 201 у больных раком толстого кишечника

В интактной сокультуре клеточной линии COLO 201 и мононуклеарных лейкоцитов периферической крови у больных РТК концентрация IFN γ (маркерного цитокина Th1-лимфоцитов) и IL-17A (маркерного цитокина Th17-лимфоцитов) оказалась меньше, чем в монокультуре лейкоцитов. Уровень TGF β 1 (маркерного

цитокина Treg-лимфоцитов), напротив, превышал соответствующий показатель монокультуры ($p_0 < 0,001$) (Таблица 9).

Сокультивирование клеток в присутствии ингибитора галектина-1 ОТХ008 в группе больных РТК ассоциировалось со статистически значимым повышением *in vitro* секреции IFN γ (в 1,7 раза, $p_1 = 0,048$) и IL-17A (в 7,7 раза, $p_1 < 0,001$) и снижением секреции TGF β 1 (в 1,3 раза, $p_1 = 0,048$) по сравнению с интактной сокультурой (Таблица 9).

Таблица 9 – Концентрация маркерных цитокинов Th1-, Th17- и Treg-лимфоцитов (пг/мл) при различных условиях культивирования COLO 201 и мононуклеарных лейкоцитов периферической крови у больных раком толстого кишечника, Me (Q₁-Q₃)

Условия культивирования клеток	Концентрация цитокинов в супернатантах (пг/мл)		
	IFN γ	IL-17A	TGF β 1
Монокультура лейкоцитов	5553,43 (5081,65-6753,13)	2375,23 (1901,35-3193,67)	4432,67 (3507,93-5768,08)
Интактная сокультура лейкоцитов и COLO 201	1712,87 (1244,08-2526,41) $p_0 < 0,001$	239,51 (121,71-413,74) $p_0 < 0,001$	13950,74 (12529,86-16279,34) $p_0 < 0,001$
Сокультура с добавлением ингибитора галектина-1 ОТХ008	2869,07 (2488,43-3242,86) $p_1 = 0,048$	1837,57 (1301,65-2380,79) $p_1 < 0,001$	10737,12 (9667,21-11722,53) $p_1 = 0,048$

Примечание. Здесь и в табл. 10: IFN – интерферон, IL – интерлейкин, TGF – трансформирующий фактор роста.

В интактной сокультуре COLO 201 и мононуклеарных лейкоцитов

периферической крови здоровых доноров уровень секреции $IFN\gamma$ и $IL-17A$ был ниже, а $TGF\beta 1$ – выше, чем в монокультуре лейкоцитов ($p_0 < 0,001$). Аналогично группе больных РТК, в группе здоровых доноров селективное ингибирование галектина-1 приводило к достоверному увеличению концентрации $IFN\gamma$ (в 1,8 раза, $p_1 < 0,001$) и $IL-17A$ (в 2,1 раза, $p_1 < 0,001$) и уменьшению содержания $TGF\beta 1$ (в 1,9 раза, $p_1 = 0,012$) в культуральных супернатантах относительно интактной сокультуры (Таблица 10).

Таблица 10 – Концентрация маркерных цитокинов Th1-, Th17- и Treg-лимфоцитов (пг/мл) при различных условиях культивирования COLO 201 и мононуклеарных лейкоцитов периферической крови у здоровых доноров, Me (Q_1 - Q_3)

Условия культивирования клеток	Концентрация цитокинов в супернатантах (пг/мл)		
	$IFN\gamma$	$IL-17A$	$TGF\beta 1$
Монокультура лейкоцитов	6595,92 (6046,75-8910,83)	3493,08 (2820,33-4265,32)	3116,56 (2284,23-3566,84)
Интактная сокультура лейкоцитов и COLO 201	3286,66 (2773,25-4067,49) $p_0 < 0,001$	1267,11 (771,45-1609,66) $p_0 < 0,001$	7743,62 (7117,21-8687,83) $p_0 < 0,001$
Сокультура с добавлением ингибитора галектина-1 ОТХ008	5984,81 (5320,84-6958,91) $p_1 < 0,001$	2646,63 (2159,53-3418,57) $p_1 < 0,001$	4129,05 (3334,32-4933,98) $p_1 = 0,012$

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Распространенные формы рака толстого кишечника являются актуальной проблемой современной онкологии, поскольку существующие подходы к лечению не обеспечивают длительной пятилетней общей выживаемости пациентов. Данное обстоятельство диктует необходимость поиска новых молекул, выступающих в роли как прогностических маркеров, так и возможных мишеней для таргетной терапии злокачественных новообразований толстого кишечника [Siegel R. L. et al., 2024]. Согласно данным ряда авторов, важными факторами опухолевой прогрессии при колоректальном раке являются компоненты опухоль-ассоциированной стромы – галектины, синтезируемые, в том числе, самими опухолевыми клетками. Так, с эффектами галектинов связывают пролиферацию, адгезию, инвазию и метастазирование опухолевых клонов, неоангиогенез, иммуносупрессию и ускользание трансформированных клеток из-под иммунологического надзора [Astorgues-Xerri L. et al., 2014 ; Thijssen V. L. et al., 2015; Girotti M. R. et al., 2020].

Известно, что на поверхности эпителиоцитов слизистой оболочки толстого кишечника присутствует галектин-1, гиперэкспрессия которого характерна для клеток, подвергшихся злокачественной трансформации [Wu R. et al., 2018]. Данный тезис подтверждают результаты настоящего исследования. Установлено, что у больных раком толстого кишечника экспрессия галектина-1 в опухоли значимо выше, чем процентное содержание галектин-1-экспрессирующих опухолевых клеток при аденомах толстого кишечника. Возможным механизмом высокой экспрессии галектина-1 опухолью при раке толстого кишечника является деметилирование ДНК, в результате которого происходит увеличение транскрипции гена галектина-1 трансформированными клетками [Satelli A., Rao U. S., 2011].

Кроме того, в литературе представлены сведения об избыточном синтезе галектинов самими злокачественными клетками и компонентами опухолевого микроокружения, что может быть причиной их повышенного содержания в плазме крови [Rubinstein N. et al., 2004; Martinez-Bosch N. et al., 2018; Holst J. M. et al., 2020;

Souri Z. et al., 2021]. Это согласуется с установленной нами корреляцией между высокой плазменной концентрацией галектина-1 и процентным содержанием галектин-1-позитивных опухолевых клеток у больных РТК. В другой работе авторами показано, что содержание галектина-1 в плазме крови при протоковой аденокарциноме поджелудочной железы может выступать в роли онкомаркера наравне со стандартным онкомаркером СА19.9 [Martinez-Bosch N. et al., 2018]. Повышенная экспрессия данного лектина в сыворотке крови была отмечена в исследовании под руководством Н. Е. Кушлинского при почечноклеточном раке различных гистологических подтипов по сравнению со здоровыми донорами [Кушлинский Н.Е. и соавт., 2024].

Для проверки гипотезы о том, что галектин-1 может выступать в роли потенциального онкомаркера при раке толстого кишечника нами было проведено сравнение между содержанием данного лектина в плазме у здоровых добровольцев и больных РТК. По результатам эксперимента мы установили, что пациенты с РТК демонстрируют более высокую концентрацию галектина-1 в плазме периферической крови по сравнению с нормальными ее значениями у здоровых доноров.

Тем не менее, данные о том есть ли разница в плазменных концентрациях галектина-1 между больными РТК и здоровыми пациентами противоречивы. Так, в исследовании М. Watanabe et al. (2011) было показано, что у больных раком толстого кишечника содержание галектина-1 в плазме выше, чем у здоровых добровольцев, а оперативное удаление опухоли приводило к снижению плазменной концентрации данного белка [Watanabe M. et al., 2011]. Напротив, согласно данным эксперимента Н. Varrow et al. (2011), концентрация галектина-1 в сыворотке крови у больных раком толстого кишечника (за исключением группы больных с метастатическим поражением печени) соответствовала таковой у здоровых лиц [Varrow H. et al., 2011]. Есть мнение, что наиболее вероятной причиной избыточной экспрессии галектина-1 опухолью является недостаточная оксигенация опухолевого очага [Zhao X. Y. et al., 2010].

По данным литературы, высокая концентрация галектина-1 в опухоли и

плазме крови ассоциирована с агрессивным характером течения опухолевого процесса что, в том числе, характерно для рака толстого кишечника [Zhao X. Y. et al., 2010; Wu K. L. et al., 2015; Wu R. et al., 2018]. Показано, что стимуляция Toll-like receptor 4 (Толл-подобного рецептора 4, TLR4) липополисахаридом приводило к TLR4-опосредованной продукции галектина-1, что способствовало активации эпителиально-мезенхимального перехода и метастазированию рака толстого кишечника посредством сигнальных путей ADAM10/17, ассоциированных с образованием лактата [Park G. B., Kim D., 2017]. В экспериментах на клеточных линиях остеосаркомы обнаружено, что гиперэкспрессия галектина-1 связана с отдаленным метастазированием опухоли, а нокадаун гена галектина-1 приводит к ингибированию инвазии и роста злокачественных клеток ввиду инактивации сигнального пути MAPK/ERK [Miao J. H. et al., 2014].

По данным проведенного сравнительного анализа нами установлено, что у пациентов с аденокарциномами толстого кишечника плазменная и опухолевая экспрессия галектина-1 выше в случае большего размера первичной опухоли (Т3, Т4) в сравнении с аденокарциномами кишечника, инвазия которых была ограничена подслизистым (Т1) или мышечным слоем (Т2). Более того, у пациентов с РТК наличие метастазов в регионарных лимфоузлах (N1, N2) было ассоциировано с более высоким содержанием галектина-1 в плазме крови и опухоли по сравнению с пациентами без регионарных метастатических очагов (N0).

Это согласуется с данными X. Zhao et al. (2010), которые продемонстрировали, что экспрессия галектина-1 в опухолевой ткани при РТК имеет прямую корреляцию с инвазией первичной опухоли и наличием метастазов в регионарных лимфоузлах. Авторами показана роль транскрипционного гипоксия-индуцируемого фактора 1 (hypoxia-inducible factor – HIF-1) как возможной причины гиперпродукции галектина-1 опухолями толстого кишечника [Zhao X. Y. et al., 2010]. Высокий плазменный уровень галектина-1 коррелировал с метастатическим поражением лимфоузлов и стадией РТК. Более того, высокое содержание галектина-1 в плазме крови у больных раком толстого кишечника было предиктором метастатического поражения лимфоузлов даже при нормальном

содержании РЭА (ракового эмбрионального антигена) в крови [Wu K. L. et al., 2015].

Наряду с этим, нами установлено, что у больных РТК с отдаленными метастазами (M1) содержание галектина-1 в периферической крови было статистически значимо выше, чем у пациентов с аденокарциномами толстого кишечника без очагов отдаленного метастазирования.

В литературе представлены данные о том, что экспрессия галектина-1 опухолью может коррелировать со степенью дифференцировки некоторых опухолей желудочно-кишечного тракта и гепатобилиарной системы [Wu H. et al., 2012; Vasigaluro M. L. et al., 2017]. Тем не менее, при раке толстого кишечника данная закономерность не прослеживается [Sanjuán X. et al., 1997; Zhao X. Y. et al., 2010]. Результаты нашего исследования также не продемонстрировали взаимосвязи между экспрессией галектина-1 в опухоли или его содержания в плазме крови со степенью дифференцировки клеток первичной опухоли. Следует отметить, что в литературе практически не представлена информация о механизмах влияния галектина-1 на дифференцировку опухолевых клеток. В основном данный белок рассматривается в качестве фактора, способного определять созревание и специализацию иммунных клеток. Тем не менее, существует информация о том, что Gal-1 может связываться с РНК и участвовать в регуляции сплайсинга и транскрипции генов, которые важны для клеточной дифференцировки [Liu F. T. et al., 2002].

Известно, что галектин-1 способен модулировать активность сигнальных путей MAPK/ERK и PI3K/AKT, играющих ключевую роль в патогенезе малигнизации доброкачественных полипов-предшественников и развитии рака толстого кишечника [Michael J. V. et al., 2016]. Кроме того, галектин-1 обладает проангиогенной активностью, а его концентрация при раке толстого кишечника коррелирует с уровнем экспрессии фактора роста эндотелия сосудов (VEGF – vascular endothelial growth factor) [Курносенко А. В. и соавт., 2024].

По данным литературы, аллельный полиморфизм генов галектинов может быть связан с их неодинаковой экспрессией и риском развития ряда заболеваний, в

том числе опухолевых [Kim S. et al., 2011; Triguero-Martínez A. et al., 2022]. В эксперименте G. Korkmaz G et al. исследована взаимосвязь между полиморфными вариантами гена галектина-3 и гена *AXINI*, являющегося ключевым компонентом Wnt/ β -катенинового сигнального пути, и морфологическими характеристиками рака толстого кишечника. Авторы установили, что генотип *CC* полиморфного варианта rs4644 гена галектина-3 значимо чаще встречается у пациентов с муцинозной аденокарциномой толстого кишечника [Korkmaz G. et al., 2016].

На этом основании нами было выдвинуто предположение, что уровень экспрессии галектина-1 в опухоли и его концентрация в крови могут быть генетически детерминированы, а именно – ассоциированы с носительством полиморфных вариантов rs4820293 и rs4820294 гена галектина-1 (*LGALS1*).

Согласно результатам настоящего исследования, у пациентов с раком толстого кишечника как в случае носительства полиморфизма rs4820293, так и полиморфизма rs4820294 гена галектина-1 наиболее часто встречались аллель *G* и генотип *GG*. При этом в распределении генотипов и аллелей полиморфизма rs4820294 у здоровых доноров и больных РТК имелись небольшие (указывающие на слабую связь с заболеванием) различия. Однако сходный характер распределения генотипов и аллелей полиморфизма rs4820293 в контрольной и основной группах исследования при широкой вариабельности значений отношения шансов при обоих вариантах полиморфизма гена *LGALS1* не позволил нам соотнести их с риском развития заболевания и указывал на отсутствие связи rs4820293 и rs4820294 с РТК.

На основании полученных данных следует сделать вывод, что полиморфный ген *LGALS1* не является фактором генетической предрасположенности к заболеванию.

Учитывая, что ассоциация между полиморфными вариантами rs4820293 или rs4820294 и раком толстого кишечника, по данным литературы, ранее не изучалась – отсутствие указанной взаимосвязи было установлено нами впервые.

Тем не менее доказано, что полиморфные варианты rs4820293 и rs4820294 гена *LGALS1* могут быть связаны с неопухолевыми заболеваниями и высоким

содержанием галектина-1 в плазме крови. Согласно S. Blois с коллегами, полиморфизм rs4820294 гена галектина-1 ассоциирован с развитием гестационного сахарного диабета [Blois S. et al., 2014]. Генотип *GG* полиморфизма rs4820293 у больных артритом оказался значимо связанным с высоким содержанием галектина-1 в плазме крови [Triguero-Martínez A. et al., 2022], а полиморфный вариант rs4820293 имел значение в предрасположении к развитию миастении гравис [Pál Z. et al., 2010].

Наши результаты показали, что носительство полиморфного варианта rs4820294 ассоциировано с более агрессивным характером течения опухолевого процесса, а именно метастазированием в регионарные лимфоузлы и дифференцировкой опухоли.

Вместе с тем результаты измерения плазменной концентрации галектина-1 показали, что у пациентов с РТК с генотипом *AA* полиморфизма rs4820294 гена *LGALS1* она была существенно выше, чем у здоровых носителей. Однако отсутствие значимых внутригрупповых различий по содержанию галектина-1 в опухолевой ткани и плазме крови у больных РТК в зависимости от генотипа полиморфных вариантов rs4820293 и rs4820294 гена *LGALS1*, не связанных (опираясь на значение OR) с заболеванием, свидетельствует о том, что продукция галектина-1 опухолью при РТК не определяется генетическим полиморфизмом. Наиболее вероятно, избыточный синтез галектина-1 опухолью является одним из механизмов универсальной стратегии «выживания» опухолевых клеток, сформированной в процессе эволюции живых организмов.

Резюмируя полученные данные, влияние секретируемого опухолью галектина-1 и полиморфных вариантов его гена на течение опухолевого процесса можно представить в виде схемы (Рисунок 4).

Известно, что галектин типа 1 способен индуцировать опухоль-ассоциированную иммуносупрессию и угнетение противоопухолевого иммунитета через подавление функций и активацию апоптоза эффекторных Т-лимфоцитов с противоопухолевыми свойствами и экспансию субпопуляций Т-регуляторных лимфоцитов (Treg), подавляющих клеточно-опосредованный иммунный ответ

[Thijssen V. L. et al., 2015; Labrie M. et al., 2017; Полетика В. С. и соавт., 2020].

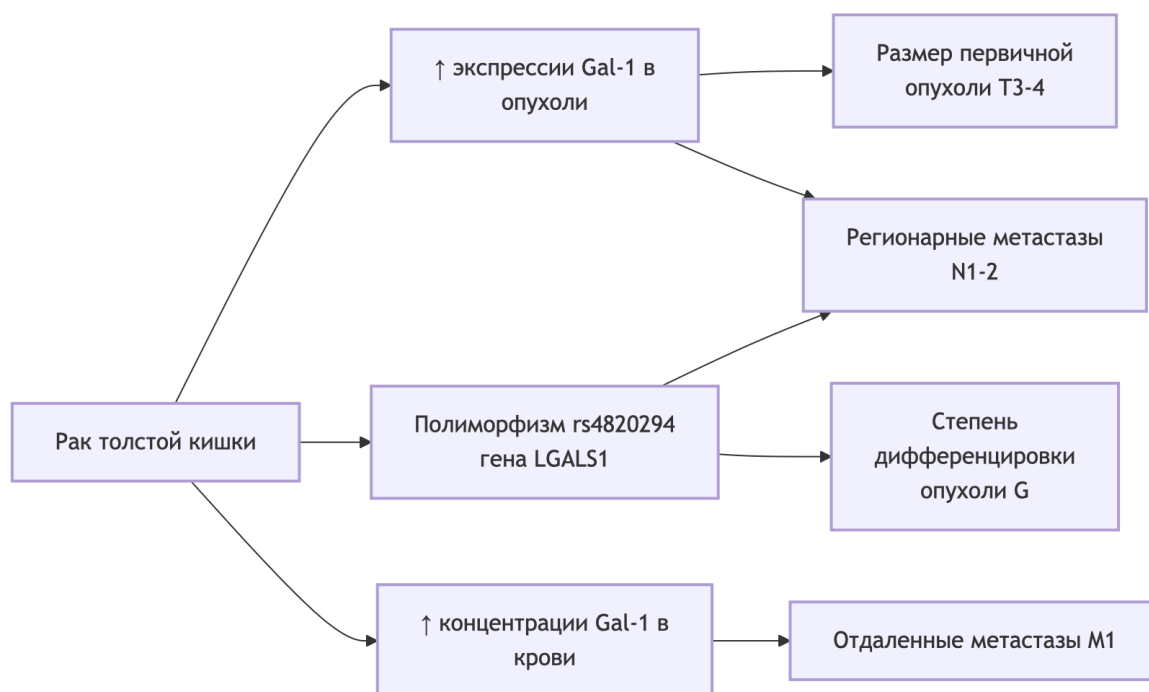


Рисунок 4 – Взаимосвязь между содержанием галектина-1 (Gal-1) в крови и опухолевой ткани, наличием полиморфного варианта rs4820294 гена *LGALS1* и клиничко-морфологическими параметрами опухолевого процесса при раке толстого кишечника

Примечание. T – размер первичной опухоли, N – регионарные метастазы, M1 – отдаленные метастазы, G – степень дифференцировки опухоли, Gal-1 – галектин-1

Регуляция функциональной и пролиферативной активности T-лимфоцитов с помощью галектина-1 возможна благодаря взаимодействию данного белка с рецепторами иммунных клеток [Schnaar R. L. et al., 2015]. Неодинаковое влияние галектина-1 на отдельные субпопуляции CD4⁺ T-лимфоцитов-хелперов может быть причиной нарушений противоопухолевого иммунитета ввиду гиперпродукции данного белка как самой опухолью, так и ее стромой [Camby I. et al., 2006; Cedeno-Laurent F. et al., 2012; Kapetanakis N. I. et al., 2023]. Например, галектин-1 индуцирует апоптоз активированных T-клеток, в результате чего общий

цитокиновый профиль Th2 (например, интерлейкины (IL) 4, -5 и -13) превышает опухолецидный цитокиновый профиль Th1 (например, IFN γ , IL-2 и TGF β), блокируя эффекторные функции иммунитета и стимулируя регуляторные T-клетки, продуцирующие IL-10 для создания привилегированного участка иммунитета в опухоли [Rubinstein N. et al., 2004; Toscano M. A. et al., 2006]. В экспериментах на *in vivo* и *in vitro* моделях рака молочной железы 4T1 продемонстрировано, что блокирование эффектов галектина-1 ассоциировано со снижением числа иммуносупрессивных FoxP3⁺ Treg как в опухоли и метастатических очагах, так и в сокультуре [Dalotto-Moreno T. et al., 2013]. По другим данным, сокультивирование клеток Рида-Штернберга с T-лимфоцитами здоровых доноров, приводило к повышению относительного количества T-регуляторных клеток, что было обусловлено секрецией галектина-1 опухолевыми клетками [Juszczynski P. et al., 2007].

Имеются сведения о прямом иммуносупрессивном действии галектина-1 на CD4⁺ T-лимфоциты в условиях *in vitro*, проявляющемся в виде увеличения экспрессии мРНК транскрипционных факторов дифференцировки Th2-клеток (GATA-3) и регуляторных T-лимфоцитов типа Treg (FoxP3) на фоне снижения экспрессии мРНК транскрипционных факторов дифференцировки Th1-лимфоцитов (T-bet) и Th17-лимфоцитов (RORC) [Васильева О. А. и соавт., 2015]. Показано также, что у больных раком толстого кишечника повышенный уровень галектина-1 в крови ассоциирован с уменьшением количества эффекторных клеток (Th1- и Th17-лимфоцитов) и увеличением числа Treg, способных подавлять механизмы реализации как клеточно-опосредованного, так и гуморального иммунного ответа [Полетика В. С. и соавт., 2020].

Согласно анализу доступной литературы, селективное влияние галектина-1 на CD4⁺ T-клетки в сокультуре COLO 201 и мононуклеаров у больных РТК и здоровых доноров остается неизученным.

В проведенном нами эксперименте *in vitro* было исследовано влияние секретируемого галектина-1 клеточной линией аденокарциномы толстого кишечника COLO 201 на экспрессию генов транскрипционных факторов

дифференцировки Т-лимфоцитов с иммунорегуляторной активностью – Т-хелперов типа 1 – Th1 (T-bet), Т-хелперов типа 17 – Th17 (RORC2) и Т-регуляторных клеток с иммуносупрессивной активностью – Treg (FoxP3). Согласно нашим результатам, в сокультуре COLO 201 и мононуклеарных лейкоцитов, полученных от больных РТК, снижалось относительное содержания мРНК генов транскрипционных факторов T-bet и RORC2, ответственных за дифференцировку Th1- и Th17-лимфоцитов соответственно, на фоне увеличения экспрессии мРНК гена маркерного транскрипционного фактора для Treg – FoxP3 в сравнении с монокультурой лейкоцитов. Аналогичная закономерность прослеживалась и в случае сокультивирования COLO 201 с мононуклеарами здоровых доноров: рост относительного количества мРНК гена *FoxP3* и снижение экспрессии мРНК генов транскрипционных факторов Т-эффекторных клеток – T-bet и RORC2 относительно культуры лейкоцитов без добавления клеточной линии аденокарциномы COLO 201.

Установленные закономерности согласуются с современными представлениями о преимущественно иммуносупрессивной активности галектина-1 в опухолевом микроокружении различных злокачественных новообразований [Rubinstein N. et al., 2004; Juszczynski P. et al., 2007; Dalotto-Moreno T. et al., 2013]. Тем не менее, данные о влиянии ингибиторов галектина-1 в сокультуре на CD4⁺ Т-клетки при РТК в литературе не представлены.

Добавление в сокультуру COLO 201 с мононуклеарами ингибитора галектина-1 ОТХ008 приводило к увеличению экспрессии мРНК генов T-bet и RORC2 при одновременном снижении экспрессии мРНК гена транскрипционного фактора FoxP3 в сравнении с интактной сокультурой лейкоцитов и COLO 201 в обеих исследуемых группах – как у больных РТК, так и у здоровых доноров.

Полученные результаты свидетельствуют об обратимости иммуносупрессивных эффектов галектина-1, что может иметь практическое значение. Ингибирование галектина-1 с помощью ОТХ008 может восстанавливать баланс между субпопуляциями Т-клеток, что открывает перспективы для разработки новых подходов в иммунотерапии рака. Многие исследования

анализируют эффект галектина-1 либо *in vivo*, либо на отдельных клеточных популяциях, но не в контексте взаимодействия опухолевых и иммунных клеток. Так, например, полученные нами результаты согласуются с данными Н. Chung и коллег на *in vivo* моделях рака молочной железы. Авторами был продемонстрирован иммуномодулирующий эффект ОТХ008, введение которого усиливало инфильтрацию опухоли CD8⁺ и CD4⁺ Т-клетками при синхронном снижении содержания количества Treg, что способствовало усилению противоопухолевого иммунного ответа [Chung H. et al., 2024]. В исследовании на *in vitro* моделях с использованием антител, блокирующих галектин-1, подтверждено, что блокада данного лектина приводит к значительному снижению супрессорной активности CD4⁺CD25⁺ Treg [Garín M. I. et al., 2007].

Иммунное микроокружение играет определяющую роль в контроле опухолевой прогрессии при колоректальном раке. Ведущее значение в реализации противоопухолевого иммунитета отводится Т-хелперам 1-го типа (Th1), которые за счет продукции цитокинов (преимущественно IL-2 и IFN γ) способствуют поляризации дифференцировки и активации цитотоксических CD8⁺ Т-лимфоцитов. Выраженная инфильтрация опухолевой ткани лимфоцитами Th1-типа и цитотоксическими клетками коррелирует с благоприятным прогнозом, проявляющимся в снижении частоты метастазирования и улучшении показателей выживаемости [Fridman W. H. et al., 2017].

Напротив, CD4⁺CD25⁺ Т-регуляторные клетки (Treg) подавляют функциональную активность CD4⁺ Т-хелперов и CD8⁺ Т-клеток, ингибируют опухоль-ассоциированный антиген-специфический иммунитет, что в значительной степени обусловлено синтезом иммуносупрессивного фактора – TGF β 1 [Derynck R. et al., 2021]. Несмотря на то, что при большинстве злокачественных новообразований высокое содержание FoxP3⁺ Treg в опухоли ассоциировано с неблагоприятным прогнозом, для рака толстого кишечника данные нескольких исследований показали обратную связь: высокая плотность Treg в опухоли была связана с лучшей выживаемостью пациентов [Salama P. et al., 2009; Frey D. M. et al., 2010]. Возможно, данная особенность связана с уникальным микроокружением

опухоли в толстой кишке, для которой характерна высокая плотность заселения микроорганизмами. Вероятно, в ответ на транслокацию бактерий через слизистую оболочку Th17-клетки высвобождают провоспалительные цитокины, которые могут способствовать росту опухоли. Treg, в свою очередь, способны подавлять избыточный Th17-опосредованный воспалительный ответ, таким образом косвенно улучшая прогноз [Ladoire S. et al., 2011].

Как и в случае с Treg, роль Th17-лимфоцитов в противоопухолевом иммунном ответе не является столь однозначной [Ye J. et al., 2013]. Отчасти это может объясняться антагонистическими взаимоотношениями между Treg и Th17-лимфоцитами, поскольку последние дифференцируются, в том числе, под влиянием TGF β – ключевого цитокина T-регуляторных клеток [Stadhouders R. et al., 2018]. С другой стороны, состав микрофлоры толстого кишечника может определять проопухолевые эффекты Th17-клеток при РТК. Так, в исследовании *in vivo*, проведенном на мышинных моделях продемонстрировано, что анаэробная бактерия, являющаяся частью нормальной микрофлоры толстого кишечника человека – энтеротоксигенная бактерия *Bacteroides fragilis* (ЕТВФ), вызывает активацию трансдуктора сигналов и активатора транскрипции-3 (signal transducer and activator of transcription-3 – STAT3), что индуцирует селективный ответ Т-хелперов 17-го типа (Th17) с развитием колита и опухолевой трансформацией клеток. Авторы установили, что блокада интерлейкина-17 (IL-17), а также рецептора для IL-23, ключевого цитокина, усиливающего Th17-ответ, подавляет ЕТВФ-индуцированный колит, гиперплазию эпителия толстого кишечника и образование опухолей [Wu S. et al., 2009].

Галектины экспрессируются почти всеми иммунными клетками, в особенности в активированных Т-эффекторных и регуляторных клетках (Treg), макрофагах, В-лимфоцитах, НК-клетках (натуральных киллерах) [Fuertes M. B. et al., 2004; Rabinovich G.A. et al., 2009; Rabinovich G. A. et al., 2012]. По данным литературы, галектины и их ингибиторы способны модулировать цитокин-секреторную активность Т-лимфоцитов, макрофагов и других клеток иммунитета при злокачественных новообразованиях в различных направлениях [Garín M. I. et

al., 2007; Cedeno-Laurent F. et al., 2012; Sturgill E. R. et al., 2021]. Например, благодаря галектину-1 макрофаги в опухолевом микроокружении способны приобретать опухоль-ассоциированный фенотип. Кроме того, Gal-1 активирует путь передачи сигнала JAK/STAT (Janus kinase / Signal transducer and activator of transcription), что приводит к увеличению экспрессии IDO1 (индоламин-2,3-диоксигеназы 1) и PD-L1 – иммунных контрольных точек, которые используются опухолью для уклонения от иммунного ответа [Rudjord-Levann A. M. et al., 2023].

Использование селективного и высокоаффинного ингибитора галектина-1 – GB1908 на моделях *in vitro* и *in vivo* продемонстрировало, что GB1908 ослабляет Gal-1-индуцированный апоптоз Т-клеток (Jurkat) и снижает выработку иммуносупрессивных цитокинов в стромальной модели опухолевого микроокружения немелкоклеточного рака легкого, а лечение препаратом GB1908 замедляет рост опухолей молочной железы и меланомы в сингенных мышинных моделях. Таким образом, ингибирование как роста опухоли, так и выработки иммуносупрессивных цитокинов в злокачественных новообразованиях с высокой экспрессией Gal-1 является потенциальной терапевтической мишенью лечения опухолей [Herman K. D. et al., 2025]. В то же время, при раке толстого кишечника роль галектина-1 в патогенезе опухоль-индуцированной иммуносупрессии остается неясной.

В результате сокультивирования COLO 201 и мононуклеаров больных раком толстого кишечника нами было установлено, что в данной сокультуре секреция IFN γ и IL-17A была ниже, чем при культивировании соответствующих Т-лимфоцитов без линии COLO 201. Напротив, влияние COLO 201 в сокультуре на секрецию Treg-маркерного цитокина – TGF β 1 было противоположным. В случае сокультивирования COLO 201 с мононуклеарными лимфоцитами здоровых добровольцев направленность изменений секреции исследуемых цитокинов была сходной: увеличение концентрации TGF β 1 и снижение содержания IFN γ и IL-17A в супернатантах сокультуры.

Результаты эксперимента В.С. Полетики с коллегами свидетельствуют об уменьшении *in vitro* секреции IL-17A у больных раком толстого кишечника в

сочетании со снижением относительного числа циркулирующих $CD4^+RORC2^+$ Th17-лимфоцитов, а также об увеличении *in vitro* секреции мононуклеарами $TGF\beta 1$ и относительного количества $CD4^+FoxP3^+$ Treg в крови. Тем не менее, на фоне уменьшения относительного числа $CD4^+T-bet^+$ Т-хелперов типа 1 в крови изменений $IFN\gamma$ -секреторной активности у больных РТК авторами отмечено не было [Полетика В.С. и соавт., 2020].

При проведенном нами сокультивировании COLO 201 с мононуклеарными лейкоцитами как больных РТК, так и здоровых доноров, блокирование галектина-1 селективным ингибитором OTX008 приводило к повышению секреции $IFN\gamma$ и IL-17A и снижению концентрации $TGF\beta 1$ в супернатантах сокультур. Полученные результаты свидетельствуют о том, что при РТК секретируемый опухолевыми клетками галектин-1 подавляет функциональную активность Th1 и Th17-лимфоцитов при одновременной стимуляции цитокин-секреторной функции Treg-клеток. Похожие результаты были получены на *in vivo* моделях колит-ассоциированного рака толстого кишечника CT26. В эксперименте авторы использовали мышей, которым вводились опухолевые клетки с нокдауном галектина-1 ($Lgals1^{-/-}$) или секретирующие галектин-1 ($Lgals1^{+/+}$). Мыши, инокулированные ($Lgals1^{-/-}$) клетками, демонстрировали более низкое содержание Treg в опухоли на фоне увеличения количества $CD4^+IFN\gamma^+$ Т-лимфоцитов относительно группы сравнения, представленной мышами ($Lgals1^{+/+}$) [Cagnoni A. J. et al., 2021].

Кроме того, иммуносупрессивные эффекты галектина-1 в опухолеассоциированной строме были продемонстрированы на моделях *in vitro* при лимфоме Ходжкина и меланоме [Rubinstein N. et al., 2004; Juszczynski P. et al., 2007]. По иным сведениям, Th17-клетки, секретирующие IL-17, накапливаются в опухолевых тканях у больных раком толстого кишечника и могут быть вовлечены в механизмы опухолевой прогрессии, а их содержание в крови было выше, чем у здоровых добровольцев [Doulabi H. et al., 2018]. Есть и другие данные, согласно которым у больных РТК, напротив, содержание Th17-лимфоцитов в периферической крови уменьшается и коррелирует с неблагоприятным прогнозом

заболевания [Ling L. et al., 2015]. Выявлено, что ингибирование Gal-1 с помощью GB1908 приводит к дозозависимому снижению продукции провоспалительных цитокинов IL-17A, IFN γ и TNF α Т-клетками мыши и человека как в *in vitro*, так и в *in vivo* моделях [Herman K. D. et al., 2024].

На рисунке 5 представлена комплексная схема, демонстрирующая установленные нами *in vitro* эффекты прямого (т.е. вне организма) действия галектина-1, секретируемого клеточной линией COLO 201, на субпопуляционный состав и цитокин-секреторную активность мононуклеарных CD4⁺ Т-лимфоцитов (больных РТК или здоровых доноров), свидетельствующие об иммуносупрессивном эффекте данного лектина.



Рисунок 5 – Влияние галектина-1 в сокультуре клеток аденокарциномы толстого кишечника линии COLO 201 и мононуклеарных лейкоцитов крови (здоровых доноров или больных раком толстого кишечника) на цитокиновый профиль и содержание мРНК генов транскрипционных факторов CD4⁺ Т-лимфоцитов

Примечание. Здесь и на рис. 6: IFN – интерферон, IL – интерлейкин, TGF – трансформирующий фактор роста

Более того, результаты нашего исследования показывают обратимость прямых эффектов галектина-1 на цитокин-секреторную активность и субпопуляционный состав CD4⁺ Т-клеток (Рисунок 6).

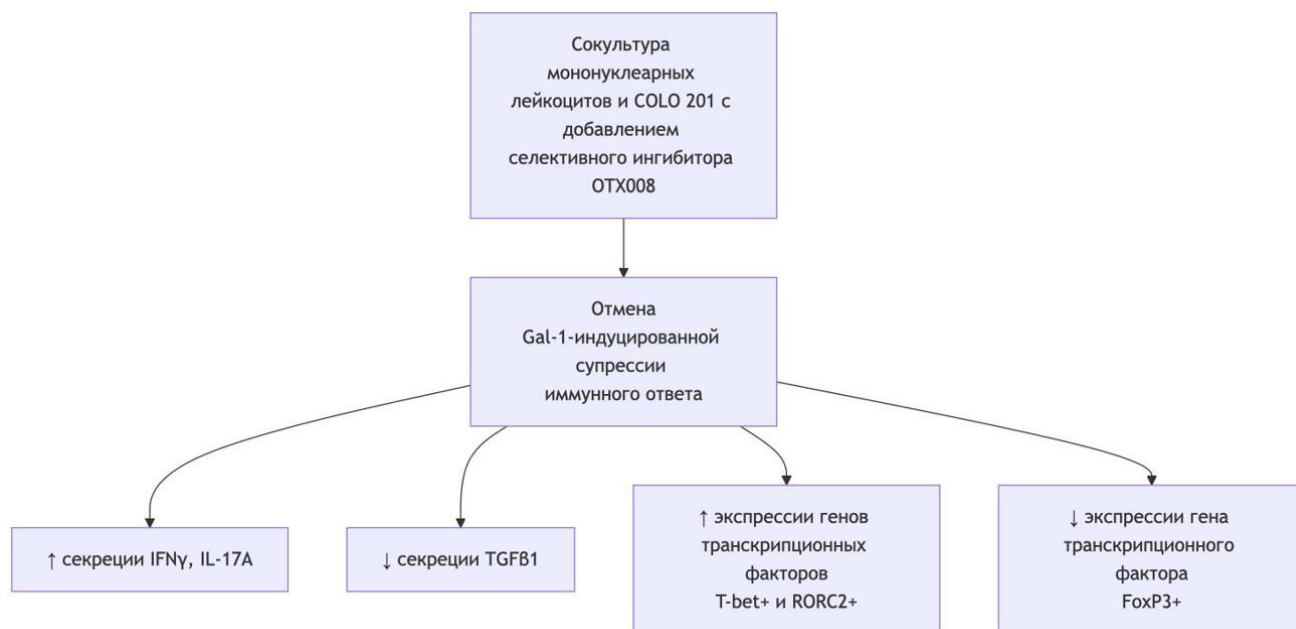


Рисунок 6 – Эффекты ингибитора галектина-1 ОТХ008 в сокультуре клеток аденокарциномы толстого кишечника линии COLO 201 и мононуклеарных лейкоцитов крови (здоровых доноров или больных раком толстого кишечника)

Таким образом, использование ингибиторов галектина-1 может быть одним из методов преодоления опухолевой иммуносупрессии, наряду с другими иммунотерапевтическими подходами к лечению рака толстого кишечника.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для рака толстого кишечника характерно повышенное содержание галектина-1 в опухоли в сравнении с аденомами толстого кишечника. Выраженность экспрессии галектина-1 в опухоли при РТК напрямую коррелирует с содержанием данного белка в периферической крови, а его концентрация в плазме крови достоверно выше, чем у здоровых доноров. При этом выраженность экспрессии галектина-1 в опухоли и его концентрация в плазме крови при РТК не связаны с носительством полиморфных вариантов rs4820293 и rs4820294 гена *LGALS1*.

Высокая экспрессия галектина-1 в опухоли и повышение содержания данного лектина в периферической крови при раке толстого кишечника, а также носительство полиморфного варианта rs4820294 гена галектина-1 определяют неблагоприятный характер течения опухолевого процесса. Высокое содержание галектин-1-позитивных опухолевых клеток и повышенная концентрация галектина-1 в крови у больных РТК ассоциированы с большей выраженностью инвазии (T3, T4) и частотой регионарного метастазирования (N1, N2) опухоли. Риск развития очагов отдаленного метастазирования (M1) напрямую коррелирует с плазменной концентрацией галектина-1. Носительство полиморфного варианта rs4820294 гена *LGALS1* проявляет сильную связь с регионарным метастазированием и степенью дифференцировки опухоли.

Продемонстрировано селективное влияние галектина-1 в сокультуре клеток аденокарциномы толстого кишечника линии COLO 201 с мононуклеарными лейкоцитами на субпопуляционный состав Treg, Th1- и Th17-хелперных субпопуляций лимфоцитов. Установлено, что в сокультуре COLO 201 с мононуклеарными лейкоцитами, полученными от больных РТК и здоровых добровольцев, происходит снижение экспрессии генов транскрипционных факторов дифференцировки Th1-клеток (T-bet) и Th17-лимфоцитов (RORC2) при увеличении экспрессии мРНК транскрипционного фактора дифференцировки Treg-клеток с иммуносупрессивной активностью (FoxP3) в сравнении с

монокультурой лейкоцитов. Добавление к сокультуре COLO 201 и мононуклеаров (здоровых добровольцев или больных РТК) ингибитора галектина-1 ОТХ008 приводит к обратному эффекту: увеличению относительного содержания мРНК генов транскрипционных факторов T-bet и RORC2 на фоне снижения экспрессии гена транскрипционного фактора FoxP3 в сравнении с интактной сокультурой COLO 201 с мононуклеарами в обеих группах.

Установлено прямое *in vitro* влияние галектина-1 на цитокин-секреторную активность ключевых субпопуляций Т-лимфоцитов – Th1, Th17 и Treg в условиях их сокультивирования с клеточной линией аденокарциномы толстого кишечника COLO 201. Выявлено, что мононуклеары больных РТК в сокультуре с COLO 201 синтезируют меньше IFN γ и IL-17A, чем в монокультуре без добавления COLO 201. В отношении секреции TGF β 1 Treg-клетками эффект добавления COLO 201 к мононуклеарным лейкоцитам для их сокультивирования является противоположным. Т-лимфоциты здоровых доноров в сокультуре с COLO 201 ведут себя аналогичным образом: секретируют относительно больше TGF β 1 и меньше – IFN γ и IL-17A. Использование ОТХ008 блокирует эффекты галектина-1 в соответствующих сокультурах COLO 201 и мононуклеаров, восстанавливая тем самым секрецию IFN γ , IL-17A (путем ее активации) и TGF β 1 (путем ее угнетения).

ВЫВОДЫ

1. Высокая экспрессия галектина-1 в опухоли и повышенная концентрация галектина-1 в периферической крови у больных раком толстого кишечника не связаны с носительством полиморфных вариантов rs4820293 и rs4820294 гена *LGALS1*.
2. Тканевая экспрессия галектина-1 у больных колоректальным раком зависит от стадии заболевания. В опухоли и (или) крови содержание галектина-1 выше при выраженной инвазии опухоли (T3-4), ее регионарном метастазировании (N1-2) и наличии отдаленных метастазов (M1).
3. Среди аллелей и генотипов полиморфных вариантов rs4820293 и rs4820294 гена галектина-1 у больных раком толстого кишечника, как и у здоровых их носителей, преобладают аллель *G* и гомозиготный генотип *GG*. Расчет величины отношения шансов (OR) указывает на отсутствие связи полиморфизма гена *LGALS1* с развитием заболевания.
4. Носительство полиморфного варианта rs4820294 гена *LGALS1* предрасполагает к развитию очагов регионарного метастазирования при раке толстого кишечника и связано со степенью дифференцировки опухоли. Связь полиморфизма rs4820293 гена *LGALS1* с клинико-морфологическими параметрами опухолевого процесса при раке толстого кишечника отсутствует.
5. Проопухолевое и иммуносупрессивное действие галектина-1 подтверждается результатами совместного *in vitro* культивирования галектин-1-экспрессирующих клеток аденокарциномы толстого кишечника линии COLO 201 с мононуклеарными лейкоцитами крови больных раком толстого кишечника и здоровых доноров в двухкамерной системе без добавления и с добавлением в среду селективного ингибитора галектина-1 OTX008.
6. *In vitro* сокультивирование клеток аденокарциномы толстого кишечника линии COLO 201 с мононуклеарными лейкоцитами крови больных раком толстого кишечника и здоровых доноров сопровождается галектин-1-опосредованным угнетением экспрессии генов факторов дифференцировки хелперных Т-

лимфоцитов с противоопухолевой активностью – Th1 (T-bet) и Th17 (RORC2) и повышением уровня мРНК фактора транскрипции FoxP3 Treg-клеток.

7. Галектин-1 влияет на цитокин-секреторную активность регуляторных T-лимфоцитов. При *in vitro* сокультивировании клеток аденокарциномы толстого кишечника линии COLO 201 с мононуклеарными лейкоцитами крови больных раком толстого кишечника и здоровых доноров снижение секреции провоспалительных цитокинов IFN γ и IL-17A сочетается с увеличением секреции иммуносупрессивного цитокина TGF β 1.

8. Селективное ингибирование галектина-1 с помощью ОТХ008 в сокультуре клеточной линии аденокарциномы толстого кишечника линии COLO 201 с мононуклеарными лейкоцитами больных раком толстого кишечника и здоровых доноров препятствует развитию галектин-1-индуцированной иммуносупрессии и восстанавливает экспрессию факторов дифференцировки регуляторных T-лимфоцитов и цитокин-секреторную активность клеток.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АТК – аденома толстого кишечника

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЗНО – злокачественное новообразование

ИКТ – ингибиторы контрольных точек

ИФА – иммуноферментный анализ

кДНК – комплементарная дезоксирибонуклеиновая кислота

КРР – колоректальный рак

МКБ – международная классификация болезней

мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота

ПДРФ – полиморфизм длин рестриционных фрагментов

ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РНК – рибонуклеиновая кислота

РТК – рак толстого кишечника

APC (adenomatous polyposis coli) – ген аденоматозного полипоза толстого кишечника

CD (cluster of differentiation) – кластер дифференцировки

CRD (carbohydrate-recognition domain) – углевод-распознающий домен

EGFR (epidermal growth factor receptor) – рецептор эпидермального фактора роста

Gal – (galectin) – галектин

H-Ras (Harvey rat sarcoma viral oncogene homolog) – гомолог вирусного онкогена саркомы мышей Харви

IFN (interferon) – интерферон

IL (interleukin) – интерлейкин

МАРК (mitogen-activated protein kinase) – митоген-активируемая протеинкиназа

MMR (mismatch repair) – система репарации ошибочно спаренных оснований ДНК

MSH (mutS homolog) – гомолог mutS – белок системы репарации ДНК

НК (natural killer) – натуральный киллер

PD (programmed cell death protein) – белок программируемой клеточной гибели

PD-L (programmed death-ligand) – лиганд рецептора программируемой клеточной гибели

PI3K (phosphoinositide 3-kinase) – фосфоинозитид-3-киназа

RAS (rat sarcoma virus oncogene) – онкоген вируса саркомы крыс

RORC2 (retinoic acid receptor-related orphan nuclear receptor gamma t) – гамма-t-связанный с рецептором ретиноевой кислоты орфанный ядерный рецептор

Tbet (T-box transcription factor TBX21) – T-box транскрипционный фактор TBX21

TCR (T-cell receptor) – T-клеточный рецептор

TGF (transforming growth factor) – трансформирующий фактор роста

Th (T helper) – T-хелпер

TNM (tumor, node, metastasis) – международная классификация стадий злокачественных новообразований

TP53 (tumor protein p53) – ген опухолевого белка p53

VEGF (vascular endothelial growth factor) – сосудистый эндотелиальный фактор роста

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Влияние галектинов на дифференцировку и функциональную активность Th-лимфоцитов *in vitro* : [XV Всероссийский научный Форум с международным участием имени академика В.И. Иоффе «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге», 1–4 июня 2015 года, Санкт-Петербург] / О. А. Васильева, Т. С. Прохоренко, А. П. Зима, В. В. Новицкий // Медицинская иммунология. – 2015. – Т. 17, № 3S. – С. 14.
2. Галектин-3 в сыворотке крови больных опухолями костей / Н. Е. Кушлинский, О. В. Ковалева, П. Л. Прищеп [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2023. – Т. 22, № 2. – С. 68–77.
3. Макрофаги и опухолевая прогрессия: на пути к макрофаг-специфичной терапии / Н. В. Чердынцева, И. В. Митрофанова, М. А. Булдаков [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2017. – Т. 16, № 4. – С. 61–74.
4. Роль галектина-1, -3 в механизмах дисрегуляции Т-клеточного звена иммунного ответа при раке толстого кишечника / В. С. Полетика, Ю. В. Колобовникова, О. И. Уразова [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2020. – Т. 19, № 3. – С. 76–82.
5. Связь галектинов-1 и -3 с проангиогенными факторами и дисфункцией эндотелия при раке толстой кишки / А. В. Курносенко, Г. В. Рейнгардт, В. С. Полетика [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2024. – Т. 105, № 4. – С. 551–559.
6. Содержание растворимых форм галектинов -1, -3, -4, -7, -9 у больных почечно-клеточным раком различных морфологических типов / Н. Е. Кушлинский, О. В. Ковалева, А. Г. Басов [и др.] // Альманах клинической медицины. – 2024. – Т. 52. – №3. – С. 107–119.
7. Состояние онкологической помощи населению России в 2024 году / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, А. О. Шахзадовой. – Москва : МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2025. – 275 с. – ISBN 978-5-85502-297-1.
8. Эффективность детоксикации для коррекции системного воспалительного

- ответа при иммунореабилитации онкологических больных / А. А. Савченко, Э. В. Каспаров, С. А. Борисов [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2022. – Т. 19, № 1-4. – С. 61–68.
9. Юшков, Б. Г. Клетки иммунной системы и регуляция регенерации / Б. Г. Юшков // Бюллетень сибирской медицины. – 2017. – Т. 16, № 4. – С. 94–105.
10. A beta-D-galactoside binding protein from electric organ tissue of *Electrophorus electricus* / V. I. Teichberg, I. Silman, D. D. Beitsch, G. Resheff // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 1975. – Vol. 72, No 4. – P. 1383–1387.
11. A comprehensive overview of CRISPR/Cas 9 technology and application thereof in drug discovery / A. Khurana, N. Sayed, V. Singh [et al.]. – DOI 10.1002/jcb.30329 // Journal of Cellular Biochemistry. – 2022. – Vol. 123, No 10. – P. 1674–1698.
12. A DNA Aptamer Targeting Galectin-1 as a Novel Immunotherapeutic Strategy for Lung Cancer / Y. T. Tsai, C. H. Liang, J. H. Yu [et al.] // Molecular Therapy. Nucleic Acids. – 2019. – Vol. 18. – P. 991–998.
13. A galectin-3 ligand corrects the impaired function of human CD4 and CD8 tumor-infiltrating lymphocytes and favors tumor rejection in mice / N. Demotte, G. Wieërs, P. Van Der Smissen [et al.] // Cancer Research. – 2010. – Vol. 70, No 19. – P. 7476–7488.
14. A genome-wide CRISPR screen reconciles the role of N-linked glycosylation in galectin-3 transport to the cell surface / S. E. Stewart, S. A. Menzies, S. J. Popa [et al.] // Journal of Cell Science. – 2017. – Vol. 130, No 19. – P. 3234–3247.
15. A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses / S. Wu, K. J. Rhee, E. Albesiano [et al.] // Nature Medicine. – 2009. – Vol. 15, No 9. – P. 1016–1022.
16. A novel galectin-1 and interleukin 2 receptor β haplotype is associated with autoimmune myasthenia gravis / Z. Pál, P. Antal, A. Millinghoffer [et al.] // Journal of Neuroimmunology. – 2010. – Vol. 229, No 1–2. – P. 107–111.
17. A Novel Galectin-1 Inhibitor Discovered through One-Bead Two-Compound Library Potentiates the Antitumor Effects of Paclitaxel in vivo / T. C. Shih, R. Liu, G. Fung [et al.] // Molecular Cancer Therapeutics. – 2017. – Vol. 16, No 7. – P. 1212–1223.

18. A Review of Colorectal Cancer in Terms of Epidemiology, Risk Factors, Development, Symptoms and Diagnosis / T. Sawicki, M. Ruzzkowska, A. Danielewicz [et al.] // *Cancers*. – 2021. – Vol. 13, No 9. – URL: <https://www.mdpi.com/2072-6694/13/9/2025>. – Published: 22 April 2021.
19. A short treatment with galactomannan GM-CT-01 corrects the functions of freshly isolated human tumor-infiltrating lymphocytes / N. Demotte, R. Bigirimana, G. Wieërs [et al.] // *Clinical Cancer Research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. – 2014. – Vol. 20, No 7. – P. 1823–1833.
20. A TIM-3/Gal-9 Autocrine Stimulatory Loop Drives Self-Renewal of Human Myeloid Leukemia Stem Cells and Leukemic Progression / Y. Kikushige, T. Miyamoto, J. Yuda [et al.] // *Cell Stem Cell*. – 2015. – Vol. 17, No 3. – P. 341–352.
21. ALK, ROS1, and NTRK Rearrangements in Metastatic Colorectal Cancer / F. Pietrantonio, F. Di Nicolantonio, A. B. Schrock [et al.]. – DOI 10.1093/jnci/djx089 // *Journal of the National Cancer Institute*. – 2017. – Vol. 109, No 12. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29370427/>. – Published: 01 December 2017.
22. Al-Zoughbi, W. Tumor Macroenvironment: An Update / W. Al-Zoughbi, G. Hoefler // *Pathobiology : journal of immunopathology, molecular and cellular biology*. – 2020. – Vol. 87, No 2. – P. 58–60.
23. An emerging role for galectins in tuning the immune response: lessons from experimental models of inflammatory disease, autoimmunity and cancer / G. A. Rabinovich, F. T. Liu, M. Hirashima, A. Anderson // *Scandinavian Journal of Immunology*. – 2007. – Vol. 66, No 2–3. – P. 143–158.
24. An Orally Active Galectin-3 Antagonist Inhibits Lung Adenocarcinoma Growth and Augments Response to PD-L1 Blockade / L. Vuong, E. Kouverianou, C. M. Rooney [et al.] // *Cancer Research*. – 2019. – Vol. 79, No 7. – P. 1480–1492.
25. Analysis of Th22, Th17 and CD4+cells co-producing IL-17/IL-22 at different stages of human colon cancer / H. Doulabi, M. Rastin, H. Shabahangh [et al.] // *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*. – 2018. – Vol. 103. – P. 1101–1106.
26. Antitumor agent calixarene 0118 targets human galectin-1 as an allosteric inhibitor

of carbohydrate binding / R. P. Dings, M. C. Miller, I. Nesmelova [et al.] // *Journal of Medicinal Chemistry*. – 2012. – Vol. 55, No 11. – P. 5121–5129.

27. Association between use of low-dose aspirin and detection of colorectal polyps and cancer in a screening setting / S. Nafisi, K. R. Randel, N. C. Støer [et al.] // *Digestive and Liver Disease*. – 2023. – Vol. 55, No 8. – P. 1126–1132.

28. Bacigalupo, M. L. Contribution of galectin-1, a glycan-binding protein, to gastrointestinal tumor progression / M. L. Bacigalupo, P. Carabias, M. F. Troncoso // *World Journal of Gastroenterology*. – 2017. – Vol. 23, No 29. – P. 5266–5281.

29. Barrow, H. The role of galectins in colorectal cancer progression / H. Barrow, J. M. Rhodes, L. G. Yu // *International Journal of Cancer*. – 2011. – Vol. 129, No 1. – P. 1–8.

30. Bradbury, K. E. Fruit, vegetable, and fiber intake in relation to cancer risk: findings from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) / K. E. Bradbury, P. N. Appleby, T. J. Key // *The American Journal of Clinical Nutrition*. – 2014. – Vol. 100, Suppl. 1. – P. 394S–398S.

31. Brinchmann, M. F. The Role of Galectins as Modulators of Metabolism and Inflammation / M. F. Brinchmann, D. M. Patel, M. H. Iversen. – DOI 10.1155/2018/9186940 // *Mediators of Inflammation*. – 2018. – Vol. 2018, No 1. – URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2018/9186940>. – First published: 21 May 2018.

32. Cancer and Mediterranean Diet: A Review / M. C. Mentella, F. Scaldaferri, C. Ricci [et al.]. – DOI 10.3390/nu11092059 // *Nutrients*. – 2019. – Vol. 11, No 9. – URL: <https://www.mdpi.com/2072-6643/11/9/2059>. – Published: 2 September 2019.

33. CD4⁺ and CD8⁺ T cells have opposing roles in breast cancer progression and outcome / Y. Huang, C. Ma, Q. Zhang [et al.] // *Oncotarget*. – 2015. – Vol. 6, No 19. – P. 17462–17478.

34. Cell surface counter receptors are essential components of the unconventional export machinery of galectin-1 / C. Seelenmeyer, S. Wegehingel, I. Tews [et al.] // *The Journal of Cell Biology*. – 2005. – Vol. 171, No 2. – P. 373–381.

35. Characterization of a neutralizing anti-human galectin-1 monoclonal antibody with

- angioregulatory and immunomodulatory activities / J. M. Pérez Sáez, P. F. Hockl, A. J. Cagnoni [et al.] // *Angiogenesis*. – 2021. – Vol. 24, No 1. – P. 1–5.
36. Characterization of neutralizing antibodies reacting with the 213-224 amino-acid segment of human galectin-9 / C. Lhuillier, C. Barjon, V. Baloché [et al.]. – DOI 10.1371/journal.pone.0202512 // *PloS One*. – 2018. – Vol. 13, No 9. – URL: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0202512>. – Published: 11 September 2018.
37. Chimera and Tandem-Repeat Type Galectins: The New Targets for Cancer Immunotherapy / F. C. F. Ko, S. Yan, K. W. Lee [et al.] // *Biomolecules*. – 2023. – Vol. 13, No 6. – P. 902. – DOI: 10.3390/biom13060902.
38. Circulating Galectin-1 and 90K/Mac-2BP Correlated with the Tumor Stages of Patients with Colorectal Cancer / K. L. Wu, H. H. Chen, C. T. Pen [et al.]. – DOI 10.1155/2015/306964 // *BioMed Research International*. – 2015. – Vol. 2015. – URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2015/306964>. – First published: 13 September 2015.
39. Circulating Vitamin D and Colorectal Cancer Risk: An International Pooling Project of 17 Cohorts / M. L. McCullough, E. S. Zoltick, S. J. Weinstein [et al.] // *Journal of the National Cancer Institute*. – 2019. – Vol. 111, No 2. – P. 158–169.
40. Classification and characterization of microsatellite instability across 18 cancer types / R. J. Hause, C. C. Pritchard, J. Shendure, S. J. Salipante // *Nature Medicine*. – 2016. – Vol. 22, No 11. – P. 1342–1350. – Erratum in: *Nature medicine*. 2017. Vol. 23, No 10. P. 1241. – Erratum in: *Nature Medicine*. 2018. Vol. 24, No 4. P. 525.
41. Clinical significance of circulating galectins as colorectal cancer markers / M. Watanabe, I. Takemasa, N. Kaneko [et al.] // *Oncology Reports*. – 2011. – Vol. 25, No 5. – P. 1217–1226.
42. Clinical Significance of Serum Galectin-1 and Its Tissue Immunohistochemical Expression in Serous Ovarian Carcinoma Patients / M. Abdelwahab, H. Ebian, T. Ibrahim [et al.] // *Open Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2019. – Vol. 9, No 7. – P. 937–953.
43. Colorectal Cancer: From Risk Factors to Oncogenesis / V. A. Ionescu, G.

Gheorghe, N. Bacalbasa [et al.]. – DOI 10.3390/medicina59091646 // *Medicina* (Kaunas, Lithuania). – 2023. – Vol. 59, No 9. – URL: <https://www.mdpi.com/1648-9144/59/9/1646>. – Published: 12 September 2023.

44. Comprehensive characterization of early-programmed tumor microenvironment by tumor-associated macrophages reveals galectin-1 as an immune modulatory target in breast cancer / H. Chung, P. Gyu-Mi, Y. R. Na [et al.] // *Theranostics*. – 2024. – Vol. 14, No 2. – P. 843–860.

45. Crosstalk between cancer-associated fibroblasts and immune cells in the tumor microenvironment: new findings and future perspectives / X. Mao, J. Xu, W. Wang [et al.]. – DOI 10.1186/s12943-021-01428-1 // *Molecular Cancer*. – 2021. – Vol. 20, No 1. – URL: <https://link.springer.com/article/10.1186/s12943-021-01428-1>. – Published: 11 October 2021.

46. Delacour, D. The role of galectins in protein trafficking / D. Delacour, A. Koch, R. Jacob // *Traffic* (Copenhagen, Denmark). – 2009. – Vol. 10, No 10. – P. 1405–1413.

47. Derynck, R. TGF β biology in cancer progression and immunotherapy / R. Derynck, S. J. Turley, R. J. Akhurst // *Nature Reviews. Clinical Oncology*. – 2021. – Vol. 18, No 1. – P. 9–34.

48. Design and synthesis of novel 3-triazolyl-1-thiogalactosides as galectin-1, -3 and -8 inhibitors / S. van Klaveren, J. Dernovšek, Z. Jakopin [et al.] // *RSC Advances*. – 2022. – Vol. 12, No 29. – P. 18973–18984.

49. Design of a peptidic inhibitor that targets the dimer interface of a prototypic galectin / M. C. Vladoiu, M. Labrie, M. Létourneau [et al.] // *Oncotarget*. – 2015. – Vol. 6, No 38. – P. 40970–40980.

50. Differential expression of galectin 3 and galectin 1 in colorectal cancer progression / X. Sanjuán, P. L. Fernández, A. Castells [et al.] // *Gastroenterology*. – 1997. – Vol. 113, No 6. – P. 1906–1915.

51. Differential glycosylation of TH1, TH2 and TH-17 effector cells selectively regulates susceptibility to cell death / M. A. Toscano, G. A. Bianco, J. M. Ilarregui [et al.] // *Nature Immunology*. – 2007. – Vol. 8, No 8. – P. 825–834.

52. Dissecting the Structure-Activity Relationship of Galectin-Ligand Interactions / Y.

C. Chan, H. Y. Lin, Z. Tu [et al.]. – DOI 10.3390/ijms19020392 // International Journal of Molecular Sciences. – 2018. – Vol. 19, No 2. – URL: <https://www.mdpi.com/1422-0067/19/2/392>. – Published: 29 January 2018.

53. Dual role of tumour-infiltrating T helper 17 cells in human colorectal cancer / F. Amicarella, M. G. Muraro, C. Hirt [et al] // Gut. – 2017. – Vol. 66, No 4. – P. 692–704.

54. Dual thio-digalactoside-binding modes of human galectins as the structural basis for the design of potent and selective inhibitors / T. J. Hsieh, H. Y. Lin, Z. Tu [et al.]. – DOI 10.1038/srep29457 // Scientific Reports. – 2016. – Vol. 6. – URL: <https://www.nature.com/articles/srep29457>. – Published: 15 July 2016.

55. Endogenous galectin-3 determines the routing of CD95 apoptotic signaling pathways / T. Fukumori, Y. Takenaka, N. Oka [et al.] // Cancer Research. – 2004. – Vol. 64, No 10. – P. 3376–3379.

56. Enhancing clinical and immunological effects of anti-PD-1 with belapectin, a galectin-3 inhibitor / B. D. Curti, Y. Koguchi, R. S. Leidner [et al.] // Journal for ImmunoTherapy of Cancer. – 2021. – Vol. 9, No 4. – P. e002371.

57. Eudragit S100 Coated Citrus Pectin Nanoparticles for Colon Targeting of 5-Fluorouracil / M. B. Subudhi, A. Jain, A. Jain [et al.] // Materials. – 2015. – Vol. 8, No 3. – P. 832–849.

58. Farhad, M. The role of Galectin-3 in modulating tumor growth and immunosuppression within the tumor microenvironment / M. Farhad, A. S. Rolig, W. L. Redmond. – DOI 10.1080/2162402X.2018.1434467 // Oncoimmunology. – 2018. – Vol. 7, No 6. – URL: https://www.tandfonline.com/doi/10.1080/2162402X.2018.1434467?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed. – Published online: 20 February 2018.

59. FOXD1 and Gal-3 Form a Positive Regulatory Loop to Regulate Lung Cancer Aggressiveness / C. H. Li, Y. C. Chang, M. Hsiao, S. M. Liang. – DOI 10.3390/cancers11121897 // Cancers. – 2019. – Vol. 11, No 12. – URL: <https://www.mdpi.com/2072-6694/11/12/1897>. – Published: 28 November 2019.

60. Functional variants regulating LGALS1 (Galectin 1) expression affect human

- susceptibility to influenza A(H7N9) / Y. Chen, J. Zhou, Z. Cheng [et al.]. – DOI 10.1038/srep08517 // *Scientific Reports*. – 2015. – Vol. 5. – URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4649671/>. – Published: 17 February 2015.
61. Gajewski, T. F. Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment / T. F. Gajewski, H. Schreiber, Y. X. Fu // *Nature Immunology*. – 2013. – Vol. 14, No 10. – P. 1014–1022.
62. Galectin expression in cancer diagnosis and prognosis: A systematic review / V. L. Thijssen, R. Heusschen, J. Caers, A. W. Griffioen // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2015. – Vol. 1855, No 2. – P. 235–247.
63. Galectin Targeted Therapy in Oncology: Current Knowledge and Perspectives / K. Wdowiak, T. Francuz, E. Gallego-Colon [et al.]. – DOI 10.3390/ijms19010210 // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2018. – Vol. 19, No 1. – URL: <https://www.mdpi.com/1422-0067/19/1/210>. – Published: 10 January 2018.
64. Galectin-1 as a potent target for cancer therapy: role in the tumor microenvironment / K. Ito, K. Stannard, E. Gabutero [et al.] // *Cancer Metastasis Reviews*. – 2012. – Vol. 31, No 3–4. – P. 763–778.
65. Galectin-1 drives pancreatic carcinogenesis through stroma remodeling and Hedgehog signaling activation / N. Martínez-Bosch, M. G. Fernández-Barrena, M. Moreno [et al.] // *Cancer Research*. – 2014. – Vol. 74, No 13. – P. 3512–3524.
66. Galectin-1 fosters an immunosuppressive microenvironment in colorectal cancer by reprogramming CD8⁺ regulatory T cells / A. J. Cagnoni, M. L. Giribaldi, A. G. Blidner [et al.]. – DOI 10.1073/pnas.2102950118 // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2021. – Vol. 118, No 21. – URL: https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.2102950118?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed. – Published: 18 May 2021.
67. Galectin-1 induces a tumor-associated macrophage phenotype and upregulates indoleamine 2,3-dioxygenase-1 / A. M. Rudjord-Levann, Z. Ye, L. Hafkenschied [et al.]. – DOI 10.1016/j.isci.2023.106984 // *iScience*. – 2023. – Vol. 26, No 7. – URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2589004223010611?via%3Dihub>. –

Published: 21 July 2023.

68. Galectin-1 induces partial TCR zeta-chain phosphorylation and antagonizes processive TCR signal transduction / C. D. Chung, V. P. Patel, M. Moran [et al.] // *Journal of Immunology* (Baltimore, Md. : 1950). – 2000. – Vol. 165, No 7. – P. 3722–3729.
69. Galectin-1 Induces the Production of Immune-Suppressive Cytokines in Human and Mouse T Cells / K. D. Herman, I. Holyer, D. C. Humphries [et al.]. – DOI 10.3390/ijms252211948 // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2024. – Vol. 25, No 22. – URL: <https://www.mdpi.com/1422-0067/25/22/11948>. – Published: 7 November 2024.
70. Galectin-1 inhibition induces cell apoptosis through dual suppression of CXCR4 and Ras pathways in human malignant peripheral nerve sheath tumors / T. C. Shih, Y. Fan, S. Kiss [et al.] // *Neuro-Oncology*. – 2019. – Vol. 21, No 11. – P. 1389–1400.
71. Galectin-1 is associated with poor prognosis in patients with cutaneous head and neck cancer with perineural spread / S. Chawla, T. A. Warren, L. F. Wockner [et al.] // *Cancer Immunology, Immunotherapy*. – 2016. – Vol. 65, No 2. – P. 213–222.
72. Galectin-1 orchestrates an inflammatory tumor-stroma crosstalk in hepatoma by enhancing TNFR1 protein stability and signaling in carcinoma-associated fibroblasts / Y. T. Tsai, C. Y. Li, Y. H. Huang [et al.] // *Oncogene*. – 2022. – Vol. 41, No 21. – P. 3011–3023.
73. Galectin-1 suppresses autoimmune retinal disease by promoting concomitant Th2- and T regulatory-mediated anti-inflammatory responses / M. A. Toscano, A. G. Commodaro, J. M. Ibarregui [et al.] // *Journal of Immunology*. – 2006. – Vol. 176, No 10. – P. 6323–6332.
74. Galectin-1 triggers an immunoregulatory signature in Th cells functionally defined by IL-10 expression / F. Cedeno-Laurent, M. Opperman, S. R. Barthel [et al.] // *Journal of Immunology*. – 2012. – Vol. 188, No 7. – P. 3127–3137.
75. Galectin-1, -3 and -9 Expression and Clinical Significance in Squamous Cervical Cancer / S. Punt, V. L. Thijssen, J. Vrolijk [et al.]. – DOI 10.1371/journal.pone.0129119 // *PloS One*. – 2015. – Vol. 10, No 6. – URL: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0129119>. – Published:

12 June 2015.

76. Galectin-1: a key effector of regulation mediated by CD4⁺CD25⁺ T cells / M. I. Garín, C. C. Chu, D. Golshayan [et al.] // *Blood*. – 2007. – Vol. 109, No 5. – P. 2058–2065.
77. Galectin-1: a small protein with major functions / I. Camby, M. Le Mercier, F. Lefranc, R. Kiss // *Glycobiology*. – 2006. – Vol. 16, No 11. – P. 137R–157R.
78. Galectin-1-driven T cell exclusion in the tumor endothelium promotes immunotherapy resistance / D. K. Nambiar, T. Aguilera, H. Cao [et al.] // *The Journal of Clinical Investigation*. – 2019. – Vol. 129, No 12. – P. 5553–5567.
79. Galectin-3 captures interferon-gamma in the tumor matrix reducing chemokine gradient production and T-cell tumor infiltration / M. Gordon-Alonso, T. Hirsch, C. Wildmann, P. van der Bruggen. – DOI 10.1038/s41467-017-00925-6 // *Nature Communications*. – 2017. – Vol. 8, No 1. – URL: <https://www.nature.com/articles/s41467-017-00925-6>. – Published: 06 October 2017.
80. Galectin-3 expression alters adhesion, motility and invasion in a lung cell line (DLKP), in vitro / L. O'Driscoll, R. Linehan, Y. H. Liang [et al.] // *Anticancer Research*. – 2002. – Vol. 22, No 6A. – P. 3117–3125.
81. Galectin-3 expression and secretion by tumor-associated macrophages in hypoxia promotes breast cancer progression / L. Wang, Y. S. Li, L. G. Yu [et al.]. – DOI 10.1016/j.bcp.2020.114113 // *Biochemical Pharmacology*. – 2020. – Vol. 178. – URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000629522030349X?via%3Dihub>. – Available online: 21 June 2020.
82. Galectin-3 germline variant at position 191 enhances nuclear accumulation and activation of β -catenin in gastric cancer / S. J. Kim, J. Y. Shin, T. C. Cheong [et al.] // *Clinical & Experimental Metastasis*. – 2011. – Vol. 28, No 8. – P. 743–750.
83. Galectin-3 inhibition suppresses drug resistance, motility, invasion and angiogenic potential in ovarian cancer / L. Mirandola, Y. Yu, M. J. Cannon [et al.] // *Gynecologic Oncology*. – 2014. – Vol. 135, No 3. – P. 573–579.
84. Galectin-3 inhibition with belapectin combined with anti-OX40 therapy reprograms the tumor microenvironment to favor anti-tumor immunity / E. R. Sturgill, A.

S. Rolig, S. N. Linch [et al.] // *Oncoimmunology*. – 2021. – Vol. 10, No 1. – URL: https://www.tandfonline.com/doi/10.1080/2162402X.2021.1892265?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed. – Published: 01 March 2021.

85. Galectin-3 interacts with components of the nuclear ribonucleoprotein complex / K. Fritsch, M. Mernberger, A. Nist [et al.]. – DOI 10.1186/s12885-016-2546-0 // *BMC Cancer*. – 2016. – Vol. 16, No 1. – URL: <https://link.springer.com/article/10.1186/s12885-016-2546-0>. – Published: 19 July 2016.

86. Galectin-3 up-regulation in hypoxic and nutrient deprived microenvironments promotes cell survival / R. Y. Ikemori, C. M. Machado, K. M. Furuzawa [et al.]. – DOI 10.1371/journal.pone.0111592 // *PloS One*. – 2014. – Vol. 9, No 11. – URL: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0111592>. – Published: 4 November 2014.

87. Galectin-3C inhibits tumor growth and increases the anticancer activity of bortezomib in a murine model of human multiple myeloma / L. Mirandola, Y. Yu, K. Chui [et al.]. – DOI 10.1371/journal.pone.0021811 // *PloS One*. – 2011. – Vol. 6, No 7. – URL: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0021811>. – Published: 13 July 2011.

88. Galectin-8 binds to the Farnesylated C-terminus of K-Ras4B and Modifies Ras/ERK Signaling and Migration in Pancreatic and Lung Carcinoma Cells / C. Meinohl, S. J. Barnard, K. Fritz-Wolf [et al.]. – DOI 10.3390/cancers12010030 // *Cancers*. – 2019. – Vol. 12, No 1. – URL: <https://www.mdpi.com/2072-6694/12/1/30>. – Published: 20 December 2019.

89. Galectin-9 alleviates acute graft-versus-host disease after haplo-hematopoietic stem cell transplantation by regulating regulatory T cell/effector T cell imbalance / N. Pang, S. Tudahong, Y. Zhu [et al.]. – DOI 10.1002/iid3.1177 // *Immunity, Inflammation and Disease*. – 2024. – Vol. 12, No 2. – URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/iid3.1177>. – Published: 14 February 2024.

90. Galectin-9 exhibits anti-myeloma activity through JNK and p38 MAP kinase pathways / T. Kobayashi, J. Kuroda, E. Ashihara [et al.] // *Leukemia*. – 2010. – Vol. 24,

No 4. – P. 843–850.

91. Galectin-9 interacts with PD-1 and TIM-3 to regulate T cell death and is a target for cancer immunotherapy / R. Yang, L. Sun, C. F. Li [et al.]. – DOI 10.1038/s41467-021-21099-2 // *Nature Communications*. – 2021. – Vol. 12, No 1. – URL: <https://www.nature.com/articles/s41467-021-21099-2>. – Published: 05 February 2021.
92. Galectin-9 Mediates the Functions of Microglia in the Hypoxic Brain Tumor Microenvironment / C. Lee, D. Yu, H. S. Kim [et al.] // *Cancer Research*. – 2024. – Vol. 84, No 22. – P. 3788–3802.
93. Galectin-9 suppresses tumor metastasis by blocking adhesion to endothelium and extracellular matrices / A. Nobumoto, K. Nagahara, S. Oomizu [et al.] // *Glycobiology*. – 2008. – Vol. 18, No 9. – P. 735–744.
94. Galectins / R. D. Cummings, F. T. Liu, G. A. Rabinovich [et al.]. – DOI 10.1101/glycobiology.4e.36 // *Essentials of Glycobiology* / eds A. Varki, R. D. Cummings, J. D. Esko [et al.]. – 4th ed. – Cold Spring Harbor (NY) : Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2022. – ISBN-13: 978-1-621824-21-3. – Chap. 36. – P. 491–504. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK579987/> (access date: 04.03.2026).
95. Genetic LGALS1 Variants Are Associated with Heterogeneity in Galectin-1 Serum Levels in Patients with Early Arthritis / A. Triguero-Martínez, E. Roy-Vallejo, N. Montes [et al.] – DOI 10.3390/ijms23137181 // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23, No 13. – URL: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/13/7181>. – Published: 28 June 2022.
96. Getting too sweet: galectin-1 dysregulation in gestational diabetes mellitus / S. M. Blois, B. Y. Gueuvoghlian-Silva, I. Tirado-González [et al.] // *Molecular Human Reproduction*. – 2014. – Vol. 20, No 7. – P. 644–649.
97. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / F. Bray, M. Laversanne, H. Sung [et al.] // *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. – 2024. – Vol. 74, No 3. – P. 229–263.
98. Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-Years for 29 Cancer Groups, 1990 to 2017: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study / Global

Burden of Disease Cancer Collaboration ; C. Fitzmaurice, D. Abate, N. Abbasi [et al.] // *JAMA Oncology*. – 2019. – Vol. 5, No 12. – P. 1749–1768. – Erratum in: *JAMA Oncology*. 2020. Vol. 6, No 3. P. 444. – Erratum in: *JAMA Oncology*. 2020. Vol. 6, No 5. P. 789. – Erratum in: *JAMA Oncology*. 2021. Vol. 7, No 3. P. 466.

99. Godula, K. Following sugar patterns in search of galectin function / K. Godula // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2018. – Vol. 115, No 11. – P. 2548–2550.

100. Gonzalez, H. Roles of the immune system in cancer: from tumor initiation to metastatic progression / H. Gonzalez, C. Hagerling, Z. Werb // *Genes & Development*. – 2018. – Vol. 32, No 19–20. – P. 1267–1284.

101. Goosenberg, E. A Review of Hereditary Colorectal Cancers : [Last Updated: 17 September 2025] / E. Goosenberg, A. Kaur, H. M. Babiker // *StatPearls*. – Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing, 2025 Jan. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538195/> (access date: 04.03.2026).

102. Growth Factors, PI3K/AKT/mTOR and MAPK Signaling Pathways in Colorectal Cancer Pathogenesis: Where Are We Now? / C. Stefani, D. Miricescu, I. I. Stanescu-Spinu [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22, No 19. – URL: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/19/10260>. – Published: 23 September 2021.

103. Hanahan, D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions / D. Hanahan // *Cancer Discovery*. – 2022. – Vol. 12, No 1. – P. 31–46.

104. High frequency of tumor-infiltrating FOXP3(+) regulatory T cells predicts improved survival in mismatch repair-proficient colorectal cancer patients / D. M. Frey, R. A. Drieser, C. T. Viehl [et al.] // *International Journal of Cancer*. – 2010. – Vol. 126, No 11. – P. 2635–2643.

105. High intratumoural galectin-1 expression predicts adverse outcome in ALK- ALCL and CD30+ PTCL-NOS / J. M. Holst, M. Ludvigsen, S. J. Hamilton-Dutoit [et al.] // *Hematological Oncology*. – 2020. – Vol. 38, No 1. – P. 59–66.

106. Hughes, R. C. Galectins as modulators of cell adhesion / R. C. Hughes // *Biochimie*. – 2001. – Vol. 83, No 7. – P. 667–676.

107. Hughes, R. C. Secretion of the galectin family of mammalian carbohydrate-binding

proteins / R. C. Hughes // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 1999. – Vol. 1473, No 1. – P. 172–185.

108. Human galectin-16 has a pseudo ligand binding site and plays a role in regulating c-Rel-mediated lymphocyte activity / Y. Si, Y. Yao, G. Jaramillo Ayala [et al.]. – DOI 10.1016/j.bbagen.2020.129755 // *Biochimica et Biophysica Acta. General Subjects*. – 2021. – Vol. 1865, No 1. – URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030441652030266X?via%3Dihub>. – Published: January 2021.

109. Hypoxia inducible factor-1 mediates expression of galectin-1: the potential role in migration/invasion of colorectal cancer cells / X. Y. Zhao, T. T. Chen, L. Xia [et al.] // *Carcinogenesis*. – 2010. – Vol. 31, No 8. – P. 1367–1375.

110. Identification of an H-Ras nanocluster disrupting peptide / C. L. Steffen, G. B. Manoharan, K. Pavic [et al.] // *Communications Biology*. – 2024. – Vol. 7, No 1. – URL: <https://www.nature.com/articles/s42003-024-06523-9>. – Published: 09 July 2024.

111. Immune Cell and Stromal Signature Associated With Progression-Free Survival of Patients With Resected Pancreatic Ductal Adenocarcinoma / U. M. Mahajan, E. Langhoff, E. Goni [et al.] // *Gastroenterology*. – 2018. – Vol. 155, No 5. – P. 1625–1639.e2.

112. Immunotherapy in colorectal cancer: rationale, challenges and potential / K. Ganesh, Z. K. Stadler, A. Cercek [et al.] // *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*. – 2019. – Vol. 16, No 6. – P. 361–375.

113. Increased plasma levels of galectin-1 in pancreatic cancer: potential use as biomarker / N. Martinez-Bosch, L. E. Barranco, C. A. Orozco [et al.] // *Oncotarget*. – 2018. – Vol. 9, No 68. – P. 32984–32996.

114. Inhibition of galectin-3 augments the antitumor efficacy of PD-L1 blockade in non-small-cell lung cancer / H. Zhang, P. Liu, Y. Zhang [et al.] // *FEBS Open Bio*. – 2021. – Vol. 11, No 13. – P. 911–920.

115. Inhibition of human cancer cell growth and metastasis in nude mice by oral intake of modified citrus pectin / P. Nangia-Makker, V. Hogan, Y. Honjo [et al.] // *Journal of the National Cancer Institute*. – 2002. – Vol. 94, No 24. – P. 1854–1862.

116. Inhibition of malignant thyroid carcinoma cell proliferation by Ras and galectin-3 inhibitors / A. Menachem, O. Bodner, J. Pastor [et al.]. – DOI 10.1038/cddiscovery.2015.47 // Cell Death Discovery. – 2015. – Vol. 1. – URL: <https://www.nature.com/articles/cddiscovery201547>. – Published: 02 November 2015.
117. Interfering with Gal-1-mediated angiogenesis contributes to the pathogenesis of preeclampsia / N. Freitag, I. Tirado-González, G. Barrientos [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2013. – Vol. 110, No 28. – P. 11451–11456.
118. Interferon gamma, an important marker of response to immune checkpoint blockade in non-small cell lung cancer and melanoma patients / N. Karachaliou, M. Gonzalez-Cao, G. Crespo [et al.]. – DOI 10.1177/1758834017749748 // Therapeutic Advances in Medical Oncology. – 2018. – Vol. 10. – URL: https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1758834017749748?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed. – First published online: 18 January 2018.
119. Interferon-signaling pathway: associations with colon and rectal cancer risk and subsequent survival / M. L. Slattery, A. Lundgreen, K. L. Bondurant, R. K. Wolff // Carcinogenesis. – 2011. – Vol. 32, No 11. – P. 1660–1667.
120. Ito, K. Inhibiting galectin-1 reduces murine lung metastasis with increased CD4(+) and CD8 (+) T cells and reduced cancer cell adherence / K. Ito, S. J. Ralph // Clinical & Experimental Metastasis. – 2012. – Vol. 29, No 6. – P. 561–572.
121. Kapetanakis, N. I. Galectins as pivotal components in oncogenesis and immune exclusion in human malignancies / N. I. Kapetanakis, P. Busson. – DOI 10.3389/fimmu.2023.1145268 // Frontiers in Immunology. – 2023. – Vol. 14. – URL: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2023.1145268/full>. – Published: 03 February 2023.
122. Kim, S. H. Dietary Intervention for Preventing Colorectal Cancer: A Practical Guide for Physicians / S. H. Kim, J. Y. Moon, Y. J. Lim // Journal of Cancer Prevention. – 2022. – Vol. 27, No 3. – P. 139–146.
123. Knockdown of galectin-1 suppresses the growth and invasion of osteosarcoma cells

- through inhibition of the MAPK/ERK pathway / J. H. Miao, S. Q. Wang, M. H. Zhang [et al.] // *Oncology Reports*. – 2014. – Vol. 32, No 4. – P. 1497–1504.
124. Labrie, M. Tissue and plasma levels of galectins in patients with high grade serous ovarian carcinoma as new predictive biomarkers / M. Labrie, L.O.F. De Araujo, L. Communal, A.M. Mes-Masson, Y. St-Pierre // *Sci Rep*. – 2017. – Vol. 7, No 1. – P. 13244. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29038585/>. – Published: 16 October 2017.
125. Ladoire, S. Prognostic role of FOXP3+ regulatory T cells infiltrating human carcinomas: the paradox of colorectal cancer / S. Ladoire, F. Martin, F. Ghiringhelli // *Cancer Immunology, Immunotherapy*. – 2011. – Vol. 60, No 7. – P. 909–918.
126. LAG3 and Its Ligands Show Increased Expression in High-Risk Uveal Melanoma / Z. Souiri, A. P. A. Wierenga, W. G. M. Kroes [et al.] // *Cancers*. – 2021. – Vol. 13, No 17. – URL: <https://www.mdpi.com/2072-6694/13/17/4445>. – Published: 3 September 2021.
127. Lewis, C. Vitamin D supplementation and quality of life following diagnosis in stage II colorectal cancer patients: a 24-month prospective study / C. Lewis, P. Xun, K. He // *Supportive Care in Cancer : official journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer*. – 2016. – Vol. 24, No 4. – P. 1655–1661.
128. LGALS3 and AXIN1 gene variants playing role in the Wnt/ β -catenin signaling pathway are associated with mucinous component and tumor size in colorectal cancer / G. Korkmaz, C. Horozoglu, S. Arıkan [et al.] // *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*. – 2016. – Vol. 16, No 2. – P. 108–113.
129. Liu, F. T. Galectins as modulators of tumour progression / F. T. Liu, G. A. Rabinovich // *Nature Reviews. Cancer*. – 2005. – Vol. 5, No 1. – P. 29–41.
130. Liu, F. T. Intracellular functions of galectins / F. T. Liu, R. J. Patterson, J. L. Wang // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2002. – Vol. 1572, No 2–3. – P. 263–273.
131. Liu, F. T. The role of galectins in immunity and infection / F. T. Liu, S. R. Stowell // *Nature Reviews. Immunology*. – 2023. – Vol. 23, No 8. – P. 479–494.
132. Lung cancer-derived galectin-1 mediates dendritic cell anergy through inhibitor of DNA binding 3/IL-10 signaling pathway / P. L. Kuo, J. Y. Hung, S. K. Huang [et al.] // *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. – 2011. – Vol. 186, No 3. – P. 1521–

1530.

133. Markowska, A. I. Galectin-3 is an important mediator of VEGF- and bFGF-mediated angiogenic response / A. I. Markowska, F. T. Liu, N. Panjwani // *The Journal of Experimental Medicine*. – 2010. – Vol. 207, No 9. – P. 1981–1993.

134. Mechanism of tumor cell-induced T-cell apoptosis mediated by galectin-1 / F. Kovács-Sólyom, A. Blaskó, R. Fajka-Boja [et al.] // *Immunology Letters*. – 2010. – Vol. 127, No 2. – P. 108–118.

135. Méndez-Huergo, S. P. Galectins: emerging regulatory checkpoints linking tumor immunity and angiogenesis / S. P. Méndez-Huergo, A. G. Blidner, G. A. Rabinovich // *Current Opinion in Immunology*. – 2017. – Vol. 45. – P. 8–15.

136. Michael, J. V. Inhibition of Galectin-1 Sensitizes HRAS-driven Tumor Growth to Rapamycin Treatment / J. V. Michael, J. G. Wurtzel, L. E. Goldfinger // *Anticancer Research*. – 2016. – Vol. 36, No 10. – P. 5053–5061.

137. Microsatellite instability in colorectal cancer / G. L. De' Angelis, L. Bottarelli, C. Azzoni [et al.] // *Acta Bio-medica : Atenei Parmensis*. – 2018. – Vol. 89, Suppl. 9. – P. 97–101.

138. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade / D. T. Le, J. N. Durham, K. N. Smith [et al.] // *Science (New York, N.Y.)*. – 2017. – Vol. 357, No 6349. – P. 409–413.

139. Modified Citrus Pectin Treatment in Non-Metastatic Biochemically Relapsed Prostate Cancer: Results of a Prospective Phase II Study / D. Keizman, M. Frenkel, A. Peer [et al.]. – DOI 10.3390/nu13124295 // *Nutrients*. – 2021. – Vol. 13, No 12. – URL: <https://www.mdpi.com/2072-6643/13/12/4295>. – Published: 28 November 2021.

140. Molecular Mechanisms of Colon Cancer Progression and Metastasis: Recent Insights and Advancements / A. Malki, R. A. ElRuz, I. Gupta [et al.]. – DOI 10.3390/ijms22010130 // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2020. – Vol. 22, No 1. – URL: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/1/130>. – Published: 24 December 2020.

141. New Treatment Strategy Targeting Galectin-1 against Thyroid Cancer / L. Gheysen, L. Soumoy, A. Trelcat [et al.]. – DOI 10.3390/cells10051112 // *Cells*. – 2021.

– Vol. 10, No 5. – URL: <https://www.mdpi.com/2073-4409/10/5/1112>. – Published: 5 May 2021.

142. Nguyen, L. H. Pathways of Colorectal Carcinogenesis / L. H. Nguyen, A. Goel, D. C. Chung // *Gastroenterology*. – 2020. – Vol. 158, No 2. – P. 291–302.

143. Oligosaccharide specificity of galectins: a search by frontal affinity chromatography / J. Hirabayashi, T. Hashidate, Y. Arata [et al.] // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2002. – Vol. 1572, No 2–3. – P. 232–254.

144. Omega-3 and -6 Fatty Acid Intake and Colorectal Cancer Risk in Swedish Women's Lifestyle and Health Cohort / A. Shin, S. Cho, S. Sandin [et al.] // *Cancer Research and Treatment*. – 2020. – Vol. 52, No 3. – P. 848–854.

145. Overexpression of galectin-1 is associated with poor prognosis in human hepatocellular carcinoma following resection / H. Wu, P. Chen, R. Liao [et al.] // *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. – 2012. – Vol. 27, No 8. – P. 1312–1319.

146. Pan, P. Colon Cancer: What We Eat / P. Pan, J. Yu, L. S. Wang // *Surgical Oncology Clinics of North America*. – 2018. – Vol. 27, No 2. – P. 243–267.

147. Park, G. B. Induction of galectin-1 by TLR-dependent PI3K activation enhances epithelial-mesenchymal transition of metastatic ovarian cancer cells / G. B. Park, Y. H. Chung, D. Kim // *Oncology Reports*. – 2017. – Vol. 37, No 5. – P. 3137–3145.

148. Pectasol-C Modified Citrus Pectin targets Galectin-3-induced STAT3 activation and synergize paclitaxel cytotoxic effect on ovarian cancer spheroids / G. Hossein, S. Halvaei, Y. Heidarian [et al.] // *Cancer Medicine*. – 2019. – Vol. 8, No 9. – P. 4315–4329.

149. Pericleous, M. Diet and supplements and their impact on colorectal cancer / M. Pericleous, D. Mandair, M. E. Caplin // *Journal of Gastrointestinal Oncology*. – 2013. – Vol. 4, No 4. – P. 409–423.

150. Pharmacokinetics and antineoplastic activity of galectin-1-targeting OTX008 in combination with sunitinib / M. Zucchetti, K. Bonezzi, R. Frapolli [et al.] // *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. – 2013. – Vol. 72, No 4. – P. 879–887.

151. Pharmacological Characterization of GB1908, a Selective Galectin-1 Carbohydrate Binding Domain Inhibitor for the Treatment of Cancer / K. D. Herman, I. Holyer, D. C. Humphries [et al.] // *Pharmacology*. – 2025. – Vol. 110, No 4. – P. 207–220.

152. Popa, S. J. Unconventional secretion of annexins and galectins / S. J. Popa, S. E. Stewart, K. Moreau // *Seminars in Cell & Developmental Biology*. – 2018. – Vol. 83. – P. 42–50.
153. Prevalence of serum galectin-1 autoantibodies in seven types of cancer: A potential biomarker / T. Nanami, I. Hoshino, F. Shiratori [et al.]. – DOI 10.3892/mco.2021.2341 // *Molecular and Clinical Oncology*. – 2021. – Vol. 15, No 3. – URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8278395/>. – Published online: 1 July 2021.
154. Prognostic significance of galectin-1 expression in patients with cancer: a meta-analysis / R. Wu, T. Wu, K. Wang [et al.]. – DOI 10.1186/s12935-018-0607-y // *Cancer Cell International*. – 2018. – Vol. 18. – URL: <https://link.springer.com/article/10.1186/s12935-018-0607-y>. – Published: 03 August 2018.
155. Prognostic Value of Galectin Expression in Patients with Breast Cancer: Systematic Review and Meta-Analysis / J. C. Ramos-Martínez, G. Altamirano-Gómez, I. Ramos-Martínez [et al.] // *Clinical Breast Cancer*. – 2022. – Vol. 22, No 5. – P. 399–409.
156. Rabinovich, G. A. Regulatory circuits mediated by lectin-glycan interactions in autoimmunity and cancer / G. A. Rabinovich, D. O. Croci // *Immunity*. – 2012. – Vol. 36, No 3. – P. 322–335.
157. Rabinovich, G. A. Role of galectins in inflammatory and immunomodulatory processes / G. A. Rabinovich, N. Rubinstein, M. A. Toscano // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2002. – Vol. 1572, No 2–3. – P. 274–284.
158. Rabinovich, G. A. Turning 'sweet' on immunity: galectin-glycan interactions in immune tolerance and inflammation / G. A. Rabinovich, M. A. Toscano // *Nature Reviews. Immunology*. – 2009. – Vol. 9, No 5. – P. 338–352.
159. Racial disparity in breast cancer and functional germ line mutation in galectin-3 (rs4644): a pilot study / V. Balan, P. Nangia-Makker, A. G. Schwartz [et al.] // *Cancer Research*. – 2008. – Vol. 68, No 24. – P. 10045–10050.
160. Rao, U. S. Surface-bound galectin-4 regulates gene transcription and secretion of chemokines in human colorectal cancer cell lines / U. S. Rao, P. S. Rao. – DOI 10.1177/1010428317691687 // *Tumour Biology*. – 2017. – Vol. 39, No 3. – URL:

- https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1010428317691687?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%200pubmed. – First published online: 27 March 2017.
161. Recent advances in the role of Th17/Treg cells in tumor immunity and tumor therapy / Y. Qianmei, S. Zehong, W. Guang [et al.] // *Immunologic Research*. – 2021. – Vol. 69, No 5. – P. 398–414.
162. Redefining Therapeutic Approaches in Colorectal Cancer: Targeting Molecular Pathways and Overcoming Resistance / S. G. Duta-Ion, I. R. Juganaru, I. A. Hotinceanu [et al.]. – DOI 10.3390/ijms252312507 // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2024. – Vol. 25, No 23. – URL: <https://www.mdpi.com/1422-0067/25/23/12507>. – Published: 21 November 2024.
163. Regulated expression of galectin-1 during T-cell activation involves Lck and Fyn kinases and signaling through MEK1/ERK, p38 MAP kinase and p70S6 kinase / M. B. Fuertes, L. L. Molinero, M. A. Toscano [et al.] // *Molecular and Cellular Biochemistry*. – 2004. – Vol. 267, No 1-2. – P. 177–185.
164. Resistance to anti-PD-1/anti-PD-L1: galectin-3 inhibition with GB1211 reverses galectin-3-induced blockade of pembrolizumab and atezolizumab binding to PD-1/PD-L1 / J. Mabbitt, I. D. Holyer, J. A. Roper [et al.]. – DOI 10.3389/fimmu.2023.1250559 // *Frontiers in Immunology*. – 2023. – Vol. 14. – URL: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2023.1250559/full>. – Published: 28 August 2023.
165. Response to Chemotherapy and Prognosis in Metastatic Colorectal Cancer With DNA Deficient Mismatch Repair / A. K. Alex, S. Siqueira, R. Coudry [et al.] // *Clinical Colorectal Cancer*. – 2017. – Vol. 16, No 3. – P. 228–239.
166. Role of Galectins in Tumors and in Clinical Immunotherapy / F. C. Chou, H. Y. Chen, C. C. Kuo, H. K. Sytwu. – DOI 10.3390/ijms19020430 // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2018. – Vol. 19, No 2. – URL: <https://www.mdpi.com/1422-0067/19/2/430>. – Published: 1 February 2018.
167. Roles of IFN- γ in tumor progression and regression: a review / D. Jorgovanovic, M. Song, L. Wang, Y. Zhang. – DOI 10.1186/s40364-020-00228-x // *Biomarker*

Research. – 2020. – Vol. 8, No 1. – URL: <https://link.springer.com/article/10.1186/s40364-020-00228-x>. – Published: 29 September 2020.

168. Satelli, A. Galectin-1 is silenced by promoter hypermethylation and its re-expression induces apoptosis in human colorectal cancer cells / A. Satelli, U. S. Rao // *Cancer Letters*. – 2011. – Vol. 301, No 1. – P. 38–46.

169. Schnaar, R. L. Glycans and glycan-binding proteins in immune regulation: A concise introduction to glycobiology for the allergist / R. L. Schnaar // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2015. – Vol. 135, No 3. – P. 609–615.

170. Schulkens, I. A. Angiostatic Cancer Therapy by Targeting Galectins in the Tumor Vasculature / I. A. Schulkens, A. W. Griffioen, V. L. Thijssen. – DOI 10.1021/bk-2012-1115.ch013 // *Galectins and Disease Implications for Targeted Therapeutics* / eds A. A. Klyosov, P. G. Traber. – Washington : American Chemical Society, 2012. – (ACS symposium series ; Vol. 1115). – ISBN 978-0-8412-2880-1. – Chap. 13. – P. 233–247. – URL: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bk-2012-1115.ch013>. – Published: 18 December 2012.

171. Sensitization of glioblastoma tumor micro-environment to chemo- and immunotherapy by Galectin-1 intranasal knock-down strategy / M. Van Woensel, T. Mathivet, N. Wauthoz [et al.]. – DOI 10.1038/s41598-017-01279-1 // *Scientific Reports*. – 2017. – Vol. 7, No 1. – URL: <https://www.nature.com/articles/s41598-017-01279-1>. – Published: 27 April 2017.

172. Short-term post-fast refeeding enhances intestinal stemness via polyamines / S. Imada, S. Khawaled, H. Shin [et al.] // *Nature*. – 2024. – Vol. 633, No 8031. – P. 895–904.

173. Siegel, R. L. Cancer statistics / R. L. Siegel, A. N. Giaquinto, A. Jemal // *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. – 2024. – Vol. 74, No 1. – P. 12–49.

174. Stadhouders, R. A cellular and molecular view of T helper 17 cell plasticity in autoimmunity / R. Stadhouders, E. Lubberts, R. W. Hendriks // *Journal of Autoimmunity*. – 2018. – Vol. 87. – P. 1–15.

175. Strategies to tackle RAS-mutated metastatic colorectal cancer / G. Patelli, F. Tosi,

A. Amatu [et al.]. – DOI 10.1016/j.esmoop.2021.100156 // ESMO Open. – 2021. – Vol. 6, No 3. – URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2059702921001162?via%3Dihub>. – Published: June 2021.

176. Structure-based optimization of angiostatic agent 6DBF7, an allosteric antagonist of galectin-1 / R. P. Dings, N. Kumar, M. C. Miller [et al.] // *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2013. – Vol. 344, No 3. – P. 589–599.

177. Sweetening the hallmarks of cancer: Galectins as multifunctional mediators of tumor progression / M. R. Girotti, M. Salatino, T. Dalotto-Moreno, G. A. Rabinovich. – DOI 10.1084/jem.20182041 // *The Journal of Experimental Medicine*. – 2020. – Vol. 217, No 2. – URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7041721/>. – Published: 24 December 2019.

178. Targeted inhibition of galectin-1 gene expression in tumor cells results in heightened T cell-mediated rejection; A potential mechanism of tumor-immune privilege / N. Rubinstein, M. Alvarez, N. W. Zwirner [et al.] // *Cancer Cell*. – 2004. – Vol. 5, No 3. – P. 241–251.

179. Targeting galectin-1 overcomes breast cancer-associated immunosuppression and prevents metastatic disease / T. Dalotto-Moreno, D. O. Croci, J. P. Cerliani [et al.] // *Cancer Research*. – 2013. – Vol. 73, No 3. – P. 1107–1117.

180. Targeting galectin-3 with a high-affinity antibody for inhibition of high-grade serous ovarian cancer and other MUC16/CA-125-expressing malignancies / M. Stasenko, E. Smith, O. Yeku [et al.] // *Scientific Reports*. – 2021. – Vol. 11, No 1. – URL: <https://www.nature.com/articles/s41598-021-82686-3>. – Published: 12 February 2021.

181. Targeting the CRD F-face of Human Galectin-3 and Allosterically Modulating Glycan Binding by Angiostatic PTX008 and a Structurally Optimized Derivative / M. C. Miller, Y. Zheng, D. Suylen [et al.] // *ChemMedChem*. – 2021. – Vol. 16, No 4. – P. 713–723.

182. The AP1-dependent secretion of galectin-1 by Reed–Sternberg cells fosters immune privilege in classical Hodgkin lymphoma / P. Juszczynski, J. Ouyang, S. Monti [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of*

America. – 2007. – Vol. 104, No 32. – P. 13134–13139.

183. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer / J. Guinney, R. Dienstmann, X. Wang [et al.] // *Nature Medicine*. – 2015. – Vol. 21, No 11. – P. 1350–1356.

184. The frequency of Th17 and Th22 cells in patients with colorectal cancer at pre-operation and post-operation / L. Ling, P. Zhao, G. Yan [et al.] // *Immunological Investigations*. – 2015. – Vol. 44, No 1. – P. 56–69.

185. The immune contexture in cancer prognosis and treatment / W. H. Fridman, L. Zitvogel, C. Sautès-Fridman, G. Kroemer // *Nature reviews. Clinical oncology*. – 2017. – Vol. 14, No 12. – P. 717–734.

186. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome / W. H. Fridman, F. Pagès, C. Sautès-Fridman, J. Galon // *Nature reviews. Cancer*. – 2012. – Vol. 12, No 4. – P. 298–306.

187. The Immunomodulatory Role of Galectin-1 in the Tumour Microenvironment and Strategies for Therapeutic Applications / A. Griffiths, P. Udomjarumane, A. S. Georgescu [et al.]. – DOI 10.3390/cancers17111888 // *Cancers*. – 2025. – Vol. 17, No 11. – URL: <https://www.mdpi.com/2072-6694/17/11/1888>. – Published: 5 June 2025.

188. The role of galectin-1 in in vitro and in vivo photodynamic therapy with a galactodendritic porphyrin / P. M. Pereira, S. Silva, J. S. Ramalho [et al.] // *European Journal of Cancer*. – 2016. – Vol. 68. – P. 60–69.

189. The role of galectins-1, 3, 7, 8 and 9 as potential diagnostic and therapeutic markers in ovarian cancer (Review) / A. Mielczarek-Palacz, Z. Kondera-Anasz, M. Smycz-Kubańska [et al.]. – DOI 10.3892/mmr.2022.12682 // *Molecular Medicine Reports*. – 2022. – Vol. 25, No 5. – URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8941520/>. – Published online: 16 March 2022.

190. The role of interleukin-17 in inflammation-related cancers / X. Zhang, B. Li, T. Lan [et al.]. – DOI 10.3389/fimmu.2024.1479505 // *Frontiers in Immunology*. – 2025. – Vol. 15. – URL: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2024.1479505/full>. – Published: 21 January 2025.

191. Therapeutic targeting of regulatory T cells in cancer / F. Shan, A. Somasundaram, T. C. Bruno [et al.] // *Trends in Cancer*. – 2022. – Vol. 8, No 11. – P. 944–961.
192. TIM-3 Regulates CD103+ Dendritic Cell Function and Response to Chemotherapy in Breast Cancer / Á. de Mingo Pulido, A. Gardner, S. Hiebler [et al.] // *Cancer Cell*. – 2018. – Vol. 33, No 1. – P. 60–74.e6.
193. Tissue-specific control of galectin-1-driven circuits during inflammatory responses / A. M. Cutine, C. A. Bach, F. Veigas [et al.] // *Glycobiology*. – 2021. – Vol. 31, No 8. – P. 891–907.
194. Togashi, Y. Regulatory T cells in cancer immunosuppression - implications for anticancer therapy / Y. Togashi, K. Shitara, H. Nishikawa // *Nature Reviews. Clinical oncology*. – 2019. – Vol. 16, No 6. – P. 356–371.
195. Tolerogenic signals delivered by dendritic cells to T cells through a galectin-1-driven immunoregulatory circuit involving interleukin 27 and interleukin 10 / J. M. Iltis, D. O. Croci, G. A. Bianco [et al.] // *Nature Immunology*. – 2009. – Vol. 10, No 9. – P. 981–991.
196. Torres-Jiménez, J. Precision Medicine in Metastatic Colorectal Cancer: Targeting ERBB2 (HER-2) Oncogene / J. Torres-Jiménez, J. Esteban-Villarrubia, R. Ferreiro-Monteagudo. – DOI 10.3390/cancers14153718 // *Cancers*. – 2022. – Vol. 14, No 15. – URL: <https://www.mdpi.com/2072-6694/14/15/3718>. – Published: 30 July 2022.
197. Treg-expressed CTLA-4 depletes CD80/CD86 by trogocytosis, releasing free PD-L1 on antigen-presenting cells / M. Tekguc, J. B. Wing, M. Osaki [et al.]. – DOI 10.1073/pnas.2023739118 // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2021. – Vol. 118, No 30. – URL: https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.2023739118?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrpub.org&rfr_dat=crpub++0pubmed. – Published: 23 July 2021.
198. Tumor galectin-1 mediates tumor growth and metastasis through regulation of T-cell apoptosis / A. Banh, J. Zhang, H. Cao [et al.] // *Cancer Research*. – 2011. – Vol. 71, No 13. – P. 4423–4431.
199. Tumor-infiltrating FOXP3+ T regulatory cells show strong prognostic significance

- in colorectal cancer / P. Salama, M. Phillips, F. Grieu [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2009. – Vol. 27, No 2. – P. 186–192.
200. Ueda, S. Suppression of tumor growth by galectin-7 gene transfer / S. Ueda, I. Kuwabara, F. T. Liu // *Cancer Research*. – 2004. – Vol. 64, No 16. – P. 5672–5676.
201. Unconventional secretion of fibroblast growth factor 2 is mediated by direct translocation across the plasma membrane of mammalian cells / T. Schäfer, H. Zentgraf, C. Zehe [et al.] // *The Journal of Biological Chemistry*. – 2004. – Vol. 279, No 8. – P. 6244–6251.
202. Unraveling galectin-1 as a novel therapeutic target for cancer / L. Astorgues-Xerri, M. E. Riveiro, A. Tijeras-Raballand [et al.] // *Cancer Treatment Reviews*. – 2014. – Vol. 40, No 2. – P. 307–319.
203. Upregulation of galectin-7 in murine lymphoma cells is associated with progression toward an aggressive phenotype / S. Moisan, M. Demers, J. Mercier [et al.] // *Leukemia*. – 2003. – Vol. 17, No 4. – P. 751–759.
204. Varied expression and localization of multiple galectins in different cancer cell lines / A. Satelli, P. S. Rao, P. K. Gupta [et al.] // *Oncology Reports*. – 2008. – Vol. 19, No 3. – P. 587–594.
205. Vitamin D Receptor Genotype, Vitamin D3 Supplementation, and Risk of Colorectal Adenomas: A Randomized Clinical Trial / E. L. Barry, J. L. Peacock, J. R. Rees [et al.] // *JAMA Oncology*. – 2017. – Vol. 3, No 5. – P. 628–635.
206. Walker, C. Role of Extracellular Matrix in Development and Cancer Progression / C. Walker, E. Mojares, A. Del Río Hernández. – DOI 10.3390/ijms19103028 // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2018. – Vol. 19, No 10. – URL: <https://www.mdpi.com/1422-0067/19/10/3028>. – Published: 4 October 2018.
207. When worlds collide: Th17 and Treg cells in cancer and autoimmunity / H. M. Knochelmann, C. J. Dwyer, S. R. Bailey [et al.] // *Cellular & Molecular Immunology*. – 2018. – Vol. 15, No 5. – P. 458–469.
208. Ye, J. The role and regulation of human Th17 cells in tumor immunity / J. Ye, R. S. Livergood, G. Peng // *The American Journal of Pathology*. – 2013. – Vol. 182, No 2. – P. 10–20.