

Modificări imunologice perioperatorii la pacienții cu cancer colorectal

Ș. Neagu^{1*}, L. Lerescu^{2*}, R. Costea¹, C. Țucureanu², I. Caraș², G. Gangură¹, R. Pitica², A. Sălăgeanu^{2*}

¹Clinica Chirurgie II, Spitalul Universitar de Urgență, București, România

²Institutul Național de Cercetare Dezvoltare pentru Microbiologie și Imunologie "Cantacuzino", București, România

Rezumat

Obiectivul studiului a fost analizarea profilului imunologic perioperator la pacienții cu cancer colorectal și stabilirea unor corelații cu evoluția ulterioară a bolii. Determinarea profilului imunologic s-a făcut prin măsurarea nivelului de citokine (IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ , TNF- α), chemokine (MIP-1 α , MCP-1, ENA-78) și factori de creștere (VEGF, bFGF) în serul pacienților cu cancer colorectal (pre-, intra- și post-operator) folosind tehnologia Xmap (platforma Luminex), care permite determinarea simultană a mai multor parametri, într-un volum mic de probă. Rezultatele au fost analizate comparativ cu un lot de subiecți sănătoși. Datele obținute evidențiază o concentrație crescută preoperatorie a citokinelor proinflamatorii (IL-1, IL-6, IL-8) dar și antiinflamatorii (IL-10) în serul pacienților cu cancer colorectal în comparație cu lotul martor. Statusul preoperator al pacienților se asociază cu inflamație cronică (posibil datorită prezenței tumorii): concentrații serice crescute ale citokinelor pro-inflamatorii și ale chemokinelor MCP-1 și MIP-1 α având corelații pozitive între valorile lor. Statusul intraoperator se caracterizează prin valori mai mari ale mediatorilor și corelații pozitive între concentrațiile serice ale TNF- α , IL-8, MCP-1 și MIP-1 α . Statusul post-operator se asociază cu valori scăzute ale mediatorilor și cu scăderea numărului de corelații. Rezultatele obținute sugerează că atât prezența tumorii, cât și actul operator influențează rețeaua mediatorilor imuni.

Cuvinte cheie: cancer colorectal, citokine, Multiplex

Abstract

Perioperative immunological changes in colorectal cancer patients

The aim of the study was to investigate the perioperative immunological profile in colon cancer patients and possible correlations with disease. To investigate the changes in immune mediators profile induced by tumor resection, we assessed the serum levels of cytokines (IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ , TNF- α), chemokines (MIP-1 α , MCP-1, ENA-78) and growth factors (VEGF, bFGF) in colon cancer patients before, during and after surgery and compared the results with those measured for a group of healthy controls. We have used XMap profiling technology (Luminex) that allows simultaneous measurement of multiple parameters in small volumes of samples. Circulating levels of proinflammatory cytokines IL-1, IL-6, IL-8 and antiinflammatory cytokine IL-10 were elevated in cancer patients with respect to healthy controls. Before surgery, serum levels of MCP-1 and MIP-1 α positively correlated with the levels of proinflammatory cytokines. During surgery, an increase in serum concentration of all determined mediators was noticed, with positive correlation between TNF- α , IL-8, MCP-1 and MIP-1 α . Interestingly, these correlations were no more noticed one week after operation. Post-operatively, cytokines levels decreased as compared to those noticed before surgery, but still higher than in control group. These preliminary results suggest that both tumor and surgical act may influence immune mediators' network.

Correspondență: Dr. Aurora Sălăgeanu
Institutul Național de Cercetare Dezvoltare pentru
Microbiologie și Imunologie "Cantacuzino"
Spl. Independenței 103, sector 5, 050096 București
E-mail: immuno@cantacuzino.ro

*Acești autori au contribuit în mod egal la efectuarea studiului.

Key words: colorectal cancer, cytokine, Multiplex

Introducere

Cancerul colorectal rămâne una dintre cauzele majore ale mortalității datorate cancerului. Cu o incidență anuală la nivel mondial de peste 945 000 cazuri, cancerul colorectal reprezintă a doua formă de cancer ca frecvență (13.2%) și a doua cauză a mortalității datorate cancerului în Europa (1-4). Deși rezecția chirurgicală a tumorii reprezintă principala modalitate terapeutică, pentru un procent de 40-50% dintre pacienți, aceasta recidivează și dezvoltă metastaze (2,5,6).

Răspunsul imun antitumoral depinde de imunogenicitatea tumorii, dar este influențat de numeroși factori, între care și mecanismele prin care tumora contracarează acest răspuns și induce imunosupresie. Evidențierea unor profile imunologice distincte la pacienții cu cancer contribuie la înțelegerea acestor mecanisme în scopul identificării unor noi modalități terapeutice (7).

Obiectivul studiului de față a fost analiza profilului imunologic perioperator la pacienții cu cancer colorectal. Studiul a fost centrat pe determinarea citokinelor, mediatori esențiali ai răspunsului imun, a chemokinelor, mediatori imuni cu rol recunoscut în inflamație, carcinogeneză și imunoreglare și a factorilor de creștere implicați în neo-anginogeneză și reparare tisulară.

Material și Metodă

Lotul de subiecți

Au fost luați în studiu 25 pacienți diagnosticați cu cancer colorectal, supuși intervenției chirurgicale în Clinica Chirurgie II a Spitalului Universitar de Urgență București.

Dintre aceștia, 15 pacienți au prezentat cancer de rect, distribuția pe segmente anatomice fiind: rect inferior – 8; rect mijlociu – 6; rect superior – 1. La pacienții cu cancer rectal inferior s-a practicat amputație abdomino-pelvină tip Miles. La ceilalți pacienți cu cancer rectal s-a efectuat rezecție anterioară cu anastomoză mecanică.

Localizarea cancerului la ceilalți 10 pacienți a fost următoarea: colon ascendent – 4 cazuri; colon descendent – 2 cazuri și sigmoid – 4 cazuri.

La toate cazurile de cancer de colon ascendent s-a practicat hemicolectomie dreaptă, iar pentru pacienții cu cancer de colon descendent s-a realizat hemicolectomie stângă (2 cazuri) și rezecție segmentară (2 cazuri). În cazurile cu localizare pe sigmoid conduita chirurgicală a constat în rezecție segmentară (2 cazuri) și rezecție tip Hartmann (2 cazuri).

Rezultatele au fost analizate comparativ cu un lot de 13 subiecți sănătoși. Includerea în studiu și prelevarea probelor a fost făcută după obținerea consimțământului informat al subiecților, iar studiul a fost aprobat de Comisia de Etică a Spitalului Universitar de Urgență București.

Determinarea concentrației de mediatori serici prin tehnologia Multiplex

Determinarea concentrației de mediatori serici s-a făcut

folosind tehnologia xMAP, pe platforma LUMINEX 100IS™. Tehnologia xMAP folosește microsfere de polistiren de 5.6 mm ce încorporează un amestec de doi fluorocromi cu emisie spectrală diferită (în domeniile roșu și infraroșu). Folosind proporții variabile ale acestor fluorocromi se obține un amestec format din 100 de tipuri de microsfere caracterizate de adrese spectrale specifice. Fiecărui tip de microsfere i se poate atașa un reactant diferit pe suprafață (în cazul de față anticorp de captare). Datorită separării spectrale, tipurile de microsfere pot fi amestecate, permițând determinarea simultană a 100 de analiți în același volum de reacție. După legarea specifică a analitului de anticorpul de captare se intervine cu un anticorp de detecție cuplat cu un al treilea tip de fluorocrom în scopul cuantificării interacțiunilor biomoleculare de pe suprafața microferei. Microsferele sunt analizate individual într-un sistem fluid similar celui folosit în flow-citometrie fiecare dintre ele trecând prin dreptul celor doi laseri ai analizorului Luminex®. Primul laser (10 MW, emisie la 635 nm) excită amestecul de fluorocromi din interiorul microferei permițând identificarea adreselor spectrale ale acestora iar cel de-al doilea (13 MW, emisie la 532 nm) excită fluorocromul exterior cuplat cu anticorpul de detecție. Emisiile fluorocromilor (658 nm, 712 nm pentru fluorocromii interni și respectiv 575 nm pentru cel extern) sunt procesate și transformate în semnale digitale care conțin informații asupra adresei spectrale a microferei, respectiv asupra numărului de complexe anticorp de captare – analit – anticorp de detecție – fluorocrom de pe suprafața microferei (acesta fiind direct proporțional cu concentrația analitului). Viteza crescută de analiză și procesare a informației (câteva mii de microsfere/s) permite obținerea rezultatelor pentru până la 100 de parametri în fiecare probă în doar câteva secunde datorită soft-ului dedicat.

În ser au fost determinate concentrațiile citokinelor: IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ , TNF- α , ale factorilor de creștere VEGF ("vascular endothelial growth factor") și bFGF ("basic fibroblast growth factor") și ale chemokinelor: MIP-1 α ("macrophage inflammatory protein"), MCP-1 ("monocyte chemoattractant protein") și ENA-78 ("endothelial-cell derived neutrophil activating protein") folosind microsfere și anticorpi din seria Fluorokine® MAP Human Panel A și kitul de baza Human MultiAnalyte Profiling Base Kit A furnizate de firma R&D Systems, conform protocolului de lucru specificat de producător. Citirea plăcilor s-a efectuat cu ajutorul platformei Luminex® 100™ iar analiza și prelucrarea datelor a fost realizată cu ajutorul soft-ului dedicat (Star Station 2.3). Rezultatele cuprind graficele curbilor etalon și tabele în care sunt trecute valorile intensității fluorescenței (MFI: Median Fluorescence Intensity) precum și concentrațiile (exprimate în pg/ml) pentru fiecare godeu (atât standarde cât și probe), fiecare mediator în parte având o fișă de rezultate separată.

Analiza statistică

Pentru prelucrarea statistică a datelor s-a folosit programul SPSS 12. Rezultatele au fost prezentate ca valori mediane, interval de variație (între percentilele 25 și 75) și eroare

medie standard. Diferențele între grupuri au fost calculate folosind testul Mann-Whitney (U-test). Corelațiile au fost determinate prin testul Pearson.

Rezultate

Caracteristicile pacienților incluși în studiu sunt prezentate în Tabelul 1.

Concentrația serică a mediatorilor imuni a fost determinată pentru pacienții cu cancer colorectal pre-operator (3-4 zile înainte de intervenția chirurgicală), intra-operator (la sfârșitul intervenției chirurgicale) și post-operator (5-7 zile după intervenția chirurgicală). Rezultatele obținute au fost comparate cu cele corespunzătoare unui grup de 13 subiecți sănătoși (vârsta medie 44.23 ± 18.1), probele fiind prelucrate în aceleași condiții.

Rezultatele pentru parametrii testați în ser sunt prezentate în Fig. 1 A-I, în care au fost reprezentate mediana, intervalul de variație (între percentilele 25 și 75) și intervalul de confidență 95% pentru fiecare grup (control, pre-, intra- și post-operator).

Discuții

Din datele prezentate, se observă că pentru toți mediatorii, cu excepția MCP-1 (post-operator) și ENA-78 (intraoperator) concentrația serică de citokine a fost mai mare pentru pacienți comparativ cu lotul control, independent de momentul recoltării. Pentru majoritatea cazurilor, aceste diferențe sunt semnificative din punct de vedere statistic (Mann-Whitney U-test) (Tabelul 2).

Analizând datele obținute, s-a observat că există unele corelații cu semnificație statistică între concentrațiile serice ale acestor mediatorii (Tabel 3, 4, 5).

Astfel, cu excepția factorilor de creștere VEGF și bFGF, există corelații pozitive cu înaltă semnificație statistică între concentrațiile citokinelor pro-inflamatorii (IL-6, TNF- α), anti-

Tabelul 1. Caracteristici ale pacienților luați în studiu

Caracteristica	Valoare
Vârsta, ani (medie)	65.3 ± 10.8
Sex:	
• bărbați	13
• femei	12
Stadializare Dukes:	
• B1	2
• B2	11
• C	10
• D	2
Localizare:	
• colon ascendent	4
• colon descendent	2
• sigmoid	4
• rect	15
Grad diferențiere:	
• G1	8
• G2	15
• G3	2

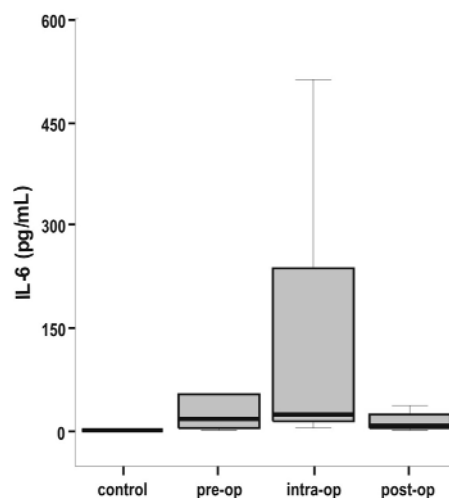


Figura 1A. Nivelul seric al IL-6 pentru pacienții cu cancer colorectal, comparativ cu lotul martor

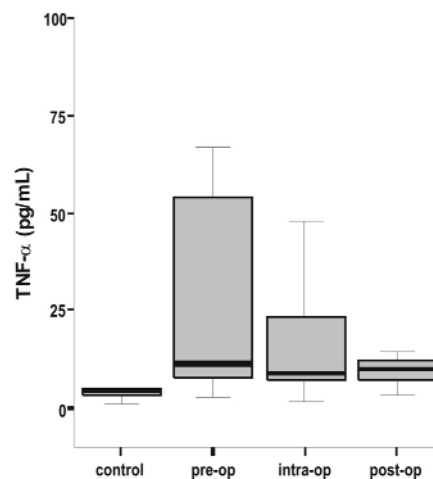


Figura 1B. Nivelul seric al TNF- α pentru pacienții cu cancer colorectal, comparativ cu lotul martor

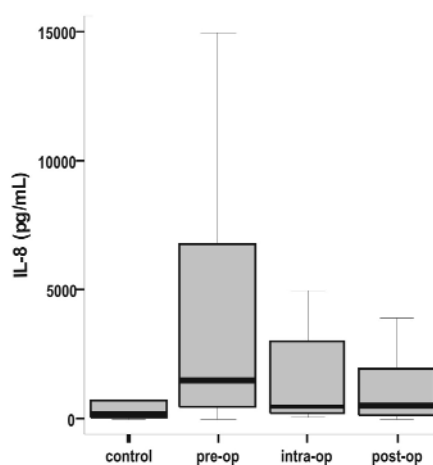


Figura 1C. Nivelul seric al IL-8 pentru pacienții cu cancer colorectal, comparativ cu lotul martor

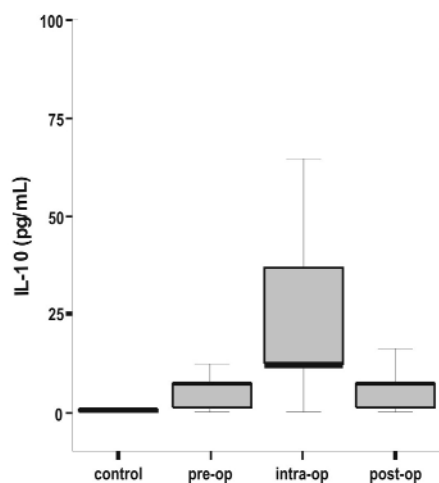


Figura 1D. Nivelul seric al IL-10 pentru pacienții cu cancer colorectal, comparativ cu lotul martor

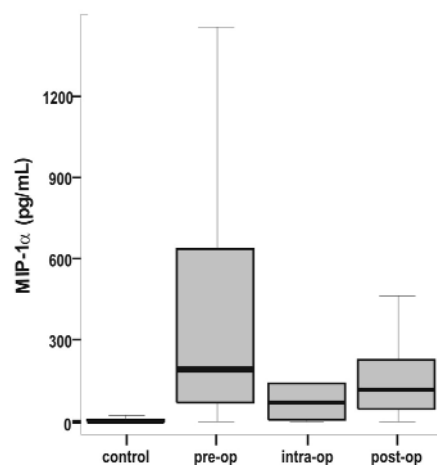


Figura 1G. Nivelul seric al MIP-1α pentru pacienții cu cancer colorectal, comparativ cu lotul martor

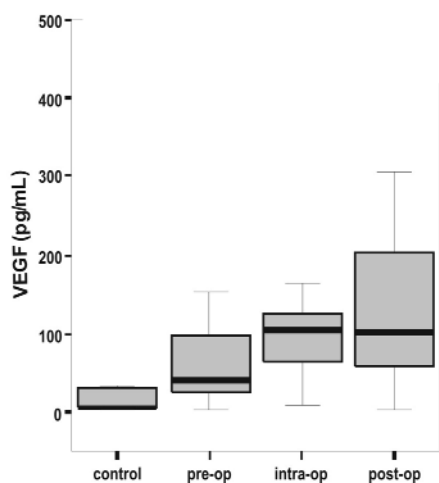


Figura 1E. Nivelul seric al VEGF pentru pacienții cu cancer colorectal, comparativ cu lotul martor

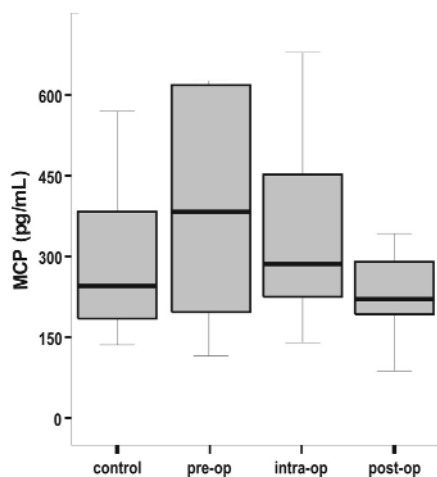


Figura 1H. Nivelul seric al MCP-1 pentru pacienții cu cancer colorectal, comparativ cu lotul martor

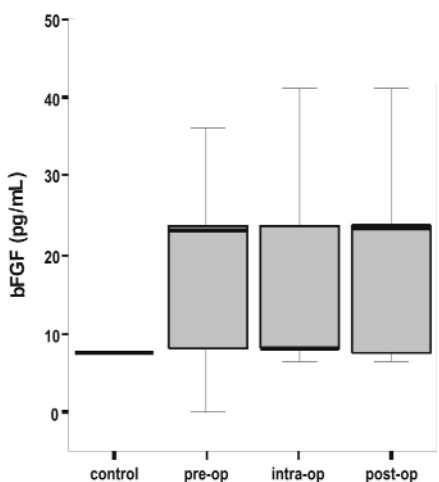


Figura 1F. Nivelul seric al bFGF pentru pacienții cu cancer colorectal, comparativ cu lotul martor

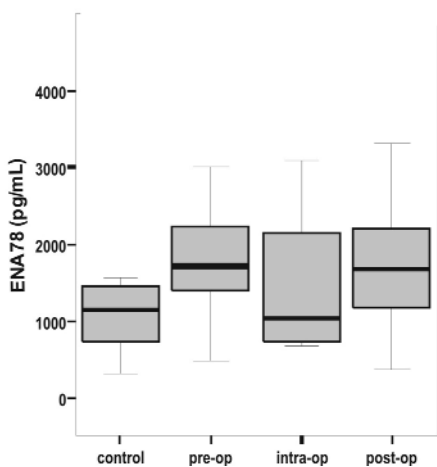


Figura 1I. Nivelul seric al ENA-78 pentru pacienții cu cancer colorectal, comparativ cu lotul martor

concentrației de IL-10 (valoare mediană 12.05 pg/ml vs. 7.17 pg/ml pre-operator, $P < 0.01$, Mann Whitney U-test). Datele obținute sunt în concordanță cu un studiu din literatură referitor la modificările în rețeaua de citokine în timpul operațiilor pe cord deschis, care semnalează de asemenea o creștere marcantă a concentrației serice de IL-10 în timpul actului chirurgical, cu revenire la valorile preoperatorii după 2 zile (14). Creșterea concentrației serice de IL-10 poate fi indusă ca răspuns la creșterea concentrațiilor de citokine pro-inflamatorii; în cazul pacienților studiați nu s-a observat o diferență statistic semnificativă a concentrației TNF- α față de nivelul preoperator, cu toate că există o corelație pozitivă statistic semnificativă între concentrațiile citokinelor pro-inflamatorii și cele ale IL-10. Pe de altă parte, creșterea nivelului seric al IL-10 intraoperator poate fi determinată și prin alte mecanisme decât cel descris mai sus, cum ar fi sinteza crescută de prostaglandine și/sau catecholamine (caracteristice stressului operator). De asemenea, intra-operator scade concentrația de IL-8 și ENA-78, în ambele cazuri înregistrându-se o creștere post-operator, mai accentuată în cazul ENA-78 (deși fără semnificație statistică). Este posibil ca nivelele serice pre-operatorii crescute să fie determinate de hipoxia asociată micromediului tumoral, care poate induce producția de IL-8, prin activarea factorului transcripțional NF- κ B. Pe de altă parte, valorile intra-operatorii scăzute pot fi puse pe seama up-regulării receptorilor pentru IL-8 consecutive activării neutrofilelor în timpul operației, ceea ce conduce la o “consumare” a acestei chemokine mai rapid decât capacitatea de sinteză a ei. Valorile post-operatorii crescute pot fi explicate prin mobilizarea neutrofilelor în procesul de vindecare a rănii. Chemokina CXCL5 (ENA-78, “epithelial cell-derived neutrophil activating protein”) este secretată predominant de enterocite și are rol în activarea și recrutarea neutrofilelor în tractul gastrointestinal. S-a arătat că la nivelul țesutului tumoral, valorile ENA-78 sunt mai mari decât în omogenatele de țesut intestinal normal prelevat de la același pacient. Pe de altă parte, s-a raportat că valorile serice ale ENA-78 ale pacienților cu cancer colorectal sunt statistic semnificativ mai mici decât ale subiecților sănătoși (15). Valorile măsurate intraoperator au fost mai mici decât cele pre- și post-operatorii, în concordanță cu variația concentrației de IL-8, citokină cu care este de altfel înrudită (identitate structurală 22%) (15).

Postoperator, concentrațiile mediatorilor studiați se mențin ridicate, deși valorile sunt mai mici decât cele determinate intraoperator (statistic semnificativ pentru IL-10, $p < 0.005$ și MCP-1, $p < 0.05$). Concentrațiile serice ale citokinelor măsurate la un interval relativ apropiat de momentul operației (5-7 zile) pot fi în mare măsură determinate de trauma chirurgicală. Astfel, TNF- α și IL-6, care sunt mediatori de fază acută, sunt considerați ca markeri ai traumei tisulare post operatorii (16).

S-a arătat că MCP-1 (“macrophage chemoattractant protein”) este implicată în reglarea creșterii și progresiei tumorale, prin recrutarea de celule inflamatorii în tumoră (17). Studii recente au demonstrat că pacienții cu diverse malig-

nități prezintă nivele serice ale MCP-1 statistic semnificativ crescute față de martorii sănătoși (8). La pacienții cu cancer colorectal studiați, concentrația serică de MCP-1 nu a fost statistic semnificativ diferită față de lotul control indiferent de momentul determinării (Tabel 2, Fig. 1H).

MIP-1 α („macrophage inflammatory protein”) membru al familiei de chemokine C-C este un chemoattractant potent pentru monocite, care se găsesc din abundență în stroma tumorală și ca atare, această chemokină pare a fi implicată în reglarea creșterii tumorale și a inflamației asociate tumorii (18). În studiul de față, concentrația MIP-1 α a scăzut intraoperator, menținându-se la o valoare scăzută și post-operator (Fig. 1G).

Factorii de creștere VEGF și bFGF, implicați în procesul de neo-anginogenază, au avut valori mai mari preoperator față de lotul control, fără ca aceste valori să se coreleze între ele sau cu ceilalți mediatori. Totuși, post operator, apare o corelație pozitivă între valorile serice ale VEGF și bFGF, care poate fi explicată prin implicarea amândurora în procesul de reparare tisulară.

Rezultatele prezentate evidențiază modificări ale profilului mediatorilor imuni la pacienții cu cancer colorectal supuși intervenției chirurgicale. Principala limitare a studiului este numărul mic de subiecți incluși până în prezent în studiu, ceea ce nu a permis stabilirea unor corelații cu datele clinice cum ar fi stadiul și gradul de diferențiere al bolii. Subîmpărțirea pe categorii care să reflecte diferențele între pacienți nu ar fi dus la obținerea unor rezultate cu semnificație statistică din cauza numărului mic din fiecare subgrup. De asemenea, complexitatea interacțiilor între mediatorii răspunsului imun nu permite formularea unor concluzii definitive pe un număr relativ restrâns de cazuri. Cu toate aceste limitări, studiul aduce informații utile privind influența prezenței tumorii, dar și a actului chirurgical asupra profilului mediatorilor imuni la pacienții cu cancer colorectal. Astfel, rezultatele obținute arată că pacienții cu cancer colorectal înainte de operație prezintă un status inflamator cronic, datorat cel puțin în parte prezenței tumorii, definit de valori crescute ale citokinelor pro-inflamatorii TNF- α și IL-6. Inflamația cronică este caracterizată și prin valori crescute ale IL-10, care este produsă ca un mecanism compensator (feed-back negativ), ceea ce explică existența unor corelații pozitive între concentrațiile serice ale acestor citokine. De asemenea, există corelații pozitive cu înaltă semnificație statistică între valorile obținute pentru chemokinele IL-8, MIP-1 α și MCP-1 și cele obținute pentru citokinele proinflamatorii și pentru IL-10, ceea ce argumentează asocierea statusului inflamator cu prezența tumorii. Statusul intraoperator este caracterizat de o “furtună de citokine” care poate masca producerea acestora la nivelul tumorii (19). În timpul operației, corelațiile pozitive se mențin, remarcându-se o creștere a concentrației de IL-10 și o scădere a concentrației serice a chemokinelor IL-8 și ENA-78 (posibil datorită up-regulării receptorului CXCR2 consecutive activării neutrofilelor în timpul operației, ceea ce conduce la o “consumare” a acestor chemokine mai rapid decât capacitatea de sinteză a lor). Post-operator, s-a observat o scădere a concentrației de TNF- α , IL-6, IL-8, IL-10, MCP-1 (statistic semnificativă pentru IL-10 și MCP-1). De asemenea, concen-

trațiile serice ale factorilor de creștere VEGF și bFGF au crescut, între valori înregistrându-se o corelație pozitivă statistic semnificativă, ceea ce se poate explica prin implicarea acestor mediatorii în procesul de reparare tisulară. Studiul va fi extins, atât prin includerea unui număr mai mare de pacienți, cât și prin evaluarea unor parametri ai imunității celulare (răspunsul limfocitelor la stimuli). De asemenea, pacienții incluși în studiu vor fi urmăriți pe o perioadă mai mare de timp, pentru a corela datele imunologice cu evoluția bolii și rata de supraviețuire, în scopul înțelegerii mecanismelor imunologice implicate în patologia studiată.

Mulțumiri

Acest studiu a fost finanțat prin Grant CNCSIS 1207/2007 (S.N.) și Proiect PAR 41-004 (A.S.)

Bibliografie

1. Zafirellis K, Agrogiannis G, Zachaki A, Gravani K, Karameris A, Kombouras C. Prognostic significance of VEGF expression evaluated by quantitative immunohistochemical analysis in colorectal cancer. *Journal of Surgical Research*. 2008;147(1):99-107.
2. Weitz J, Koch M, Debus J, Höhler T, Galle PR, Büchler MW. Colorectal cancer. *Lancet*. 2005;365(9454):153-65.
3. Vilcea ID, Vasile I, Tomescu P, Pașalega M, Meșină C, Calotă F, et al. Loco-regional advanced colorectal cancer: diagnostic and therapeutic features. *Chirurgia (Bucur)*. 2008;103(2):189-94.
4. Efremidou EI, Liratzopoulos N, Papageorgiou SM, Romanidis K, Turlis T, Kouklakis G, et al. Colorectal carcinoma: correlation between age, gender and subsite distribution. *Chirurgia (Bucur)*. 2008;103(6):659-63.
5. Mazilu L, Ciufu N, Galan M, Romanidis K, Suceveanu AI, Suceveanu AP, et al. Posttherapeutic follow-up of colorectal cancer patients treated with curative intent. *Chirurgia (Bucur)*. 2012;107(1):54-7.
6. Zaharie F, Mocan L, Tomus C, Mocan NT, Zaharie R, Bartos D, et al. Risk factors for anastomotic leakage following colo-rectal resections for cancer. *Chirurgia (Bucur)*. 2012;107(1):26-31.
7. Caras I, Grigorescu A, Stavaru C, Radu DL, Mogos I, Szegli G, et al. Evidence for immune defects in breast and lung cancer patients. *Cancer Immunol Immunother*. 2004;53(12):1146-52.
8. Dehqanzada ZA, Storrer CE, Hueman MT, Foley RJ, Harris KA, Jama YH, et al. Assessing serum cytokine profiles in breast cancer patients receiving a HER 2/neu vaccine using Luminex® technology. *Oncol Rep*. 2007;17(3):687-94.
9. Berghella AM, Contasta I, Pellegrini P, Beato TD, Adorno D. Are immunological mechanisms involved in colon cancer and are they possible markers for biotherapy improvement? *Cancer Biother Radiopharm*. 2006;21(5):468-87.
10. Leitch EF, Chakrabarti M, Crozier JE, McKee RF, Anderson JH, Horgan PG, et al. Comparison of the prognostic value of selected markers of the systemic inflammatory response in patients with colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2007;97(9):1266-70. Epub 2007 Oct 9.
11. Gorelik E, Landsittel DP, Marrangoni AM, Modugno F, Velikokhatnaya L, Winans MT, et al. Multiplexed immuno-bead-based cytokine profiling for early detection of ovarian cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005;14(4):981-7.
12. Galizia G, Orditura M, Romano C, Lieto E, Castellano P, Pelosio L, et al. Prognostic significance of circulating IL-10 and IL-6 serum levels in colon cancer patients undergoing surgery. *Clin Immunol*. 2002;102(2):169-78.
13. Karayiannakis AJ, Syrigos KN, Zbar A, Baibas N, Polychronidis A, Simopoulos C, et al. Clinical significance of preoperative serum vascular endothelial growth factor levels in patients with colorectal cancer and the effect of tumor surgery. *Surgery*. 2002;131(5):548-55.
14. Risnes I, Ueland T, Lundblad R, Mollnes TE, Baksaas ST, Aukrust P, et al. Changes in the cytokine network and complement parameters during open heart surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2003;2(1):19-24.
15. Dimberg J, Dienus O, Lofgren S, Hugander A, Wagsater D. Expression and gene polymorphisms of the chemokine CXCL5 in colorectal cancer patients. *Int J Oncol*. 2007;31(1):97-102.
16. Catena F, Ansaloni L, Avanzolini A, Di Saverio S, D'Alessandro L, Maldini Casadei M, et al. Systemic cytokine response after emergency and elective surgery for colorectal carcinoma. *Int J Colorectal Dis*. 2009;24(7):803-8. Epub 2009 Mar 13.
17. Miotto D, Boschetto P, Bononi I, Milani G, Legorini C, Cavallesco G, et al. CC ligand 2 levels are increased in LPS-stimulated peripheral monocytes of patients with non-small cell lung cancer. *Respir Med*. 2007;101(8):1738-43. Epub 2007 Apr 12.
18. Nath A, Chattopadhyaya S, Chattopadhyay U, Sharma NK. Macrophage inflammatory protein (MIP)1alpha and MIP1beta differentially regulate release of inflammatory cytokines and generation of tumoricidal monocytes in malignancy. *Cancer Immunol Immunother*. 2006;55(12):1534-41. Epub 2006 Mar 4.
19. Miki C, Tanaka K, Inoue Y, Araki T, Ohi M, Mohri Y, et al. Perioperative host-tumor inflammatory interactions: a potential trigger for disease recurrence following a curative resection for colorectal cancer. *Surg Today*. 2008;38(7):579-84. Epub 2008 Jul 9.