

**СОДЕРЖАНИЕ КЛЕТОК ВРОЖДЕННОГО И ПРИОБРЕТЕННОГО ИММУНИТЕТА
В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ГЛИАЛЬНЫМИ ОПУХОЛЯМИ
ГОЛОВНОГО МОЗГА**

*ЛИСЯНИЙ Н.И., ГНЕДКОВА И.А., ЛИСЯНИЙ А.А., ВАСЛОВИЧ В.В.,
КОТ Л.А., ГНЕДКОВА М.А.*

ГУ «Институт нейрохирургии им. А.П. Ромоданова», Киев

Многочисленными исследованиями установлено, что при опухолях различного гистогенеза отмечаются изменения в клетках врожденного и адаптивного иммунного ответа. относящихся к различным росткам гемопоэза увеличиваются с увеличением степени злокачественности опухоли [1]. Особое внимание на ряду с лимфоцитами, клетками приобретенного иммунитета сегодня уделяется роли нейтрофилов и тромбоцитов, которых относят к важным полифункциональным клеткам врожденного иммунитета в механизмах онкогенеза и иммуносупрессии [1-4].

Многие функции тромбоцитов и лейкоцитов связаны с происхождением этих клеток в эволюционном процессе от общего предшественника. У низших позвоночных (рыб и птиц) тромбоциты выполняют гемостатическую и иммунную функции [2].

Тромбоциты активно стимулируют рост опухоли, диссеминацию и ангиогенез, а также супрессию иммунного ответа [3,4]. Показано, что тромбоцитоз свыше $>400 \times 10^9/\text{л}$ клеток сопровождался снижением периода ремиссии у больных раком, тогда как содержание тромбоцитов $<205 \times 10^9/\text{л}$ сопровождалось 5-летней выживаемостью у больных раком пищевода [4]. Смертность у больных раком с высокими значениями лейкоцитоза или тромбоцитозом после химиотерапии составила 6,9 % и 2,9% соответственно, а совместно – с лейкоцитозом и тромбоцитозом -20% [5]. В связи с этим, определение соотношения показателей абсолютного содержания тромбоцитов к абсолютному содержанию нейтрофилов может являться важным критерием клинической стадии опухолевого процесса, а также эффективности проведенного комбинированного лечения.

Активация системы гемостаза способствует прогрессии опухоли. Тромбоцитарно-фибриновые отложения, покрывающие опухолевые клетки способствуют уклонению от воздействия НК на опухолевые клетки [6,7].

Факторы, продуцируемые тромбоцитами модифицируют функцию иммунокомпетентных

клеток. Тромбоциты взаимодействуя с дендритными клетками повышают эндоцитоз и обработку АГ. АТФ- сигнал тромбоцитов через рецептор P2x7 Т клеток повышает дифференцировку Т клеток в направлении провоспалительных Т-хелпер 17 [6,8]. Факторы тромбоцитов TGF и PDGF препятствуют выживанию NK, активируют NK62D рецептор и экспрессию NK PDGF рецептора. Тромбоциты способствуют метастазированию посредством продукции ростовых факторов (VEGF, TGF, PDGF) и металлопротеаз (MMPs) на участках адгезии опухолевых клеток к эндотелию сосудов [6,9].

Было показано, что рост экспериментальных опухолей молочной железы мышей BALB/c и карциномы легких Lewis у мышей C57Bl/6 сопровождался повышением в периферической крови нейтрофилов, колониестимулирующего фактора G-CSF, способствующую коагуляции и тромбозу у больных раком [6,10].

Тромбоциты взаимодействуют с нейтрофилами, используя различные механизмы, формируя тромбоцитарно-лейкоцитарные комплексы, которые секретируют серотонин, индуцируют P селектин на поверхности тромбоцитов; молекулу адгезии ICAM и v3 на эндотелиальных клетках. Все эти факты свидетельствуют о вовлечении тромбоцитами нейтрофилов в воспалительное микроокружение опухоли. Анти CXCR2 антитела уменьшают вовлечение нейтрофилов в опухоль и способствуют выживанию экспериментальных животных [11-13].

Для клинической оценки изменения количества этих клеток используют определение соотношения абсолютных значений тромбоцитов к нейтрофилам (Тр/Нф,) абсолютных значения тромбоцитов к лимфоцитам (Тр/Лф) и процентного отношения нейтрофилов к лимфоцитам (Нф/Лф,) которые интегрально отображают изменения отдельных показателей врожденного и приобретенного иммунитета.

Была установлена связь значения показателей в периферической крови и степенью инфильтрации нейтрофилами и лимфоцитами глиом. Так, повышенный индекс Нф/Лф корре-

лировал с увеличением инфильтрации глиобластомы нейтрофилами и снижением инфильтрации Т клетками [13]. Было также показано, что при показателе воспалительного ответа Нф/Лф <4 ремиссия у больных глиобластомой составляла 11 месяцев, тогда как при Нф/Лф >4 -7,5 месяцев [14, 15].

Целью исследований было изучить состав и соотношение клеточных составляющих к врожденной и адаптивной иммунной системе в периферической крови больных глиальными опухолями головного мозга различной степени злокачественности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Изучены показатели периферической крови 67 больных глиомы нейроэктодермального происхождения, оперированных в институте нейрохирургии в 2015-2017 гг. и 28 больных неонкологическими заболеваниями ЦНС, составляющие группу сравнения. Возраст больных составлял 35-65 лет.

Данные показателей крови брали из историй болезни. Определение показателей периферической крови проводилось в дооперационном периоде на автоматическом гематологическом анализаторе Mindray 3000 plus. Определялось абсолютное содержание тромбоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов, а также – соотношение абсолютного количества тромбоцитов к абсолютному содержанию лимфоцитов (Тр/Лф), соотношение абсолютного количества тромбоцитов к абсолютному содержанию нейтрофилов (Тр/Нф) и соотношение процентного содержания нейтрофилов к проценту лимфоцитов (Нф/Лф) периферической крови.

Статистическая обработка с помощью пакета программ «Statistica». Достоверность различий на основании критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание тромбоцитов у больных опухолями головного мозга не превышало значения нормы для данного показателя (200-400) x 10⁹ /л клеток. При рассмотрении особенностей показателей периферической крови у больных нейроэктодермальными опухолями с учетом происхождения опухоли из различных глиальных ростков было отмечено достоверное повышение содержания лейкоцитов и абсолютного содержания нейтрофилов у больных глиобластомами, по сравнению со значениями группы сравнения. Необходимо также отметить, что абсолютное содержание нейтрофилов увеличивалось параллельно увеличению степени анаплазии глиом (Табл.1). Процентное содержание лимфоцитов в периферической крови снижалось, а абсолютное содержание тромбоцитов имело тенденцию к увеличению

параллельно увеличению степени анаплазии глиомы (Табл.1). Соотношение Тр/Лф было достоверно выше у больных глиобластомами, по сравнению с соответствующими значениями у больных астроцитомами фибриллярно-протоплазматическими (159,3±13,8) и (104,3±12,3) соответственно.(p=0,0432) Соотношение Тр/Нф составляло наименьшее значение у больных глиобластомами (43,4±3,95), по сравнению с лицами группы сравнения (p=0,0098). Снижение соотношения Тр,/Нф происходило за счет достоверного увеличения абсолютного содержания нейтрофилов у больных глиобластомами (p=0,0155) (Табл.2). Достоверно высокие значения показателя соотношения Нф/Лф отмечались у больных глиобластомами, по сравнению со значениями у больных доброкачественными астроцитомами и лицами группы сравнения (Табл.2) В связи с этим показатели Нф/Лф и Тр/Лф можно использовать как дополнительный критерий оценки степени анаплазии глиомы у конкретного больного.

Было также установлено, что в крови и в опухоли больных глиобластомами увеличивается содержание миелосупрессорных клеток нейтрофильного ряда (PMN-MDSCs), сопровождающееся увеличением в крови белка S 100 A8/9 и аргиназы, что и определяет иммуносупрессорную функцию этих клеток [16, 17]. Концентрация MDSCs в доброкачественных астроцитомах вызывала их малигнизацию [18]. В связи с этим, увеличение абсолютного и относительного содержания нейтрофилов в периферической крови больных глиомами и увеличение показателей соотношения Тр/Лф и Нф/Лф и снижение соотношения Тр/Нф косвенно может отражать малигнизацию глиом (Табл.2.)

Таким образом, относительное угнетение лимфоцитарного роста гемопоэза при наиболее злокачественных глиомах, увеличение гранулоцитопоза может косвенно отражать преобладание реакций врожденного иммунитета, активацию фагоцитарных реакций у гемопоэтических клеток нейтрофилов, моноцитов и тромбоцитов [19], и угнетение реакций приобретенного иммунитета. В этой связи относительные показатели: Тр/Лф, Тр/Нф, Нф/Лф могут с одной стороны, отражать значение воспалительных реакций в патогенезе глиом в каждом конкретном случае, а также иметь прогностическое значение в отношении степени анаплазии глиомы, клиническом течении и эффективности проведенного лечения.

ВЫВОДЫ:

1. Содержание в крови нейтрофилов и лимфоцитов у больных опухолями головного мозга зависит от гистогенеза опухоли и степени злокачественности.

2. При злокачественных опухолях – глиобластомах, достоверно увеличивается относительные показатели Тр/Лф и НФ/Лф, по сравнению с доброкачественными опухолями, что может являться дополнительным критерием оценки степени анаплазии глиомы
3. Относительные показатели: соотношения клеток периферической крови Тр/Лф,

Тр/Нф, Нф/Лф, в определенной степени отражают состояние отдельных звеньев врожденного и приобретенного иммунитета могут служить дополнительными показателями прогноза клинического течения опухолевого процесса и эффективности проведенного лечения.

Таблица 1

Содержание клеток в периферической крови у больных глиальными опухолями головного мозга

Гистоструктура опухоли	Тромбоциты $\times 10^9 /L$	Лейкоциты $\times 10^9 /L$	Абсолютное количество лимфоцитов $\times 10^9 /L$	Процентное содержание лимфоцитов %	Абсолютное количество нейтрофилов $\times 10^9 /L$
Глиобластомы N=36	236,8±10,6	9,2±0,62**	1,87±0,13	22,4±1,89**	6,08±0,48**
Анапластические астроцитомы n=13	240,5±16,3	7,4±0,67	1,97±0,22	25,0±3,08	5,39±0,83
Астроцитомы фибриллярно-протоплазматические n=13	217,9±9,0	7,8±0,64	2,39±0,21**	29,3±3,7	4,89±0,62
Олигодендро-глиомы n=8	214,8±16,9	7,9±1,35	2,24±0,23	30,1±5,0	4,77±1,02
Нейроэктодермальные опухоли N=67	230,7±6,6	8,5±0,39**	2,03±0,09**	25,7±1,36**	5,41±0,38**
Группа сравнения N=28	213,9±8,3	5,6±0,34**	1,68±0,07**	31,7±1,52**	3,98±0,48**

* достоверность отличий между группами опухолей различной гистоструктуры P < 0,01

** достоверность отличий, по сравнению с группой контроля P < 0,01

Таблица 2

Соотношение клеток периферической крови у больных глиальными опухолями головного мозга различной степени анаплазии

Гистоструктура Опухоли	Тр/Лф	Тр/Нф	Нф/Лф
Глиобластомы N=36	159,3±13,8**	43,4±3,95**	3,95±0,42**
Анапластические астроцитомы n=13	138,8±15,8	56,1±3,95*	2,98±0,51
Астроцитомы фибриллярно-протоплазматические n=13	104,3±12,3**	52,8±6,4**	2,22±0,38*
Олигодендро-глиомы n=8	102,9±12,4**	54,3±5,5**	2,11±0,59*
Нейроэктодермальные опухоли n=67	135,0±8,3	48,6±2,8**	3,26±0,27**
Группа сравнения n=28	131,17±5,96**	65,9±5,1**	2,18±0,20**

* достоверность отличий между группами опухолей различной гистоструктуры P < 0,01

** достоверность отличий, по сравнению с группой контроля P < 0,01

СПИСОК ЛІТЕРАТУРЫ

1. Subeikshanan V., Dutt A., Basu et al., A prospective comparative clinical study of peripheral blood counts and indices in patients with primary brain tumors. *J. Postgrad. Med.* 2016; 62 (2):86-90.
2. Zavarzin A.A. Oчерки evolucionnoy histologii krovi I soedinitelnoy tkani 1945. *Medgiz, M Vip.1.* 155 c. (in Russian) Заваpзин A.A. Oчерки эволюционной гистологии крови и соединительной ткани. 1945, Медгиз. М. Вып 1. 155 с
3. Li Z, Ya Yang F., Dunn S et al., Platelets as immune mediators: Their role host defense responses and sepsis. *Tromb. Res.* 2011; 127 (3):184-188
4. Menter D.G., Tucker S.C., Kopez S et al., Platelets and cancer: a casual or causal relationship: revisited: *Cancer, Metastatic Rev.* 2014; 33 (1) 231-269
5. Connolly G., Khorana A.A. Kuderer N.M. et al., Leukocytosis, thrombosis and early mortality in cancer patients initiating chemotherapy. *Tromb. Res.* 2010; 126 (2):113-118
6. Mitruno A., Tormoen G.W., Kuhn P., McCarty O.J.T. The protrombotic activity of cancer cells in the circulation. *Blood Rev.* 2016; 30 (1) :11-19
7. Jang P., Ren Ya., Lan Y et al., Phagocytosis of platelets enhances endothelial cell survival under serum deprivation. *Exp. Biol. Med (Maywood)* 2015; 240 (7):876-883.
8. Morrell C.N., Aggrey A.A., Chapman L.M., Modjeski K.L. Emerging roles for platelets as immune and inflammatory cells. *Blood.* 2014; 123 (18): 2759-2767.
9. Pucci F., Riokelt S., Newton A.P. et al., PF4 promotes platelet production and lung cancer growth. *Cell Rep.* 2016; 17 (7):1764-1772.
10. Hisada Y., Geddings J.E., Mackman N., Venous thrombosis and cancer: from mouse models to clinical trials. *J Thromb. Haemost.* 2015; 13 (18) 1372-1382
11. Weber M., Zuka M., Lorger M et al., Activated tumor cell integrin $\alpha 3$ cooperates with platelets to promote extravasational metastasis from the blood stream *Tromb. Res.* 2016; 140 (1):27-36
12. Kim J., Bae J-S. Tumor-associated macrophages and neutrophils in tumor microenvironment. *Mediators inflamm.* 2016, 2016:6058147. doi:10.1155/2016/6058147
13. Han S., Liu Y, Li Q et al., Pre – treatment neutrophil to lymphocyte ratio is associated with neutrophil and T cell infiltration and predicts clinical outcome in in patients with glioblastoma. *Cancer* 2015; 15: 617
14. Anezova R., Ryskeldiev N., Doskaliev A et al., Association of preoperative levels of selected blood inflammatory markers with prognosis in gliomas. *Onco Targets Ther.* 2016; (9):611-617
15. Bambury R.M., Teo M.Y., Power D.C. et al., The association of pre-treatment neutrophil to lymphocyte ratio with overall survival in patients with glioblastoma multiforme. *J. Neurooncol.* 2013; 114:149-154.
16. Gieden P.R., Schulte B.M., Kers-Rebel E.D. et al., Elevated levels of polymorphonuclear myeloid-derived suppressor cells in patients with glioblastoma highly express S100 A8/9 and arginase a suppress T cell function. *Neuro Oncol.* 2016; 18 (9):1253-1264
17. Gieryng A., Kaminska B., Myeloid-derived suppressor cells in gliomas. *Contemp. Oncol (Pozn);* 2016; 20 (5):345-351. doi.:10.45114/wo.2016.64592.
18. Hung Y., Rajappa P., Hu W et al., A proangiogenic signaling axis in myeloid cells promotes malignant progression of glioma. *J. Clin. Invest.* 2017 12715/1826-1838 doi. 10.1172/jci186443.
19. Kyznik B.I. Vasiliev N.V., Cibikov N.I. Immunogenez, hemostaz i nespecificheskay rezistentnost organizma M., *Medicina*, -1989.- 320 c (in Russian) Кузник Б.И., Васильев Н.В. Цыбиков Н.И. Иммуногенез, гемостаз и неспецифическая резистентность организма М., *Медицина*, 1989.- 320 с.

РЕЗЮМЕ

СОДЕРЖАНИЕ КЛЕТОК ВРОЖДЕННОГО И ПРИОБРЕТЕННОГО ИММУНИТЕТА В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ГЛИАЛЬНЫМИ ОПУХОЛЯМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Лисяний Н.И., Гнедкова И.А., Лисяний А.А., Васлович В.В., Кот Л.А., Гнедкова М.А.

ГУ «Институт нейрохирургии им. А.П. Ромоданова», Киев

Целью исследований было изучить состав и соотношение клеток, относящихся к врожденной и адаптивной иммунной системе в периферической крови больных опухолями головного мозга (ОГМ) различной гистоструктуры.

Материал и методы исследований. Изучены показатели периферической крови 67 больных ОГМ различной гистоструктуры. Определение показателей периферической крови проводилось на автоматическом гематологическом анализаторе Mindray 3000 plus. Определялось абсолютное содержание (АС) тромбоцитов (Тр), нейтрофилов (Нф) и лимфоцитов (Лф), а также – соотношение АС Тр к АС Лф (Тр/Лф), соотношение АС Тр к АС Нф (Тр/Нф) и соотношение процентного содержания (ПС) нейтрофилов к ПС Лф (Нф/Лф).

Результаты: Была установлена активация гранулоцитарного ростка гемопоэза у больных нейроэктодермальными (НЭ) опухолями (менингиомами)

по порівнянню со значеннями групи порівняння. АС Нф збільшувалось паралельно збільшенню ступеня анаплазії глиом. Соотношение Тр/Лф было достоверно выше у больных глиобластомами (ГБ), по сравнению с соответствующими значениями у больных астроцитомами фибриллярно-протоплазматическими ПС. Паралельно збільшенню ступеня анаплазії глиомы достоверно збільшувались показателі Тр/Лф і Нф/Лф знижувался показателі Тр/Нф.

Выводы:

1. Содержание в крови Нф и Лф у больных ОГМ зависит от гистогенеза опухоли и степени злокачественности.

2. При злокачественных опухолях – ГБ) достоверно збільшується відносний показателі Тр/Лф, по сравнению с доброкачественными опухолями, что может являться дополнительным критерием оценки степени анаплазії глиомы.

3. Относительные показатели: соотношения клеток периферической крови Тр/Лф, Тр/Нф, Нф/Лф, в определенной степени отражают состояние отдельных звеньев врожденного и приобретенного иммунитета могут служить дополнительными показателями прогноза клинического течения опухолевого процесса и эффективности проведенного лечения.

Ключевые слова: врожденный и адаптивный иммунный ответ, тромбоциты, нейтрофилы, лимфоциты, гематологические индексы.

РЕЗЮМЕ

ВМІСТ КЛІТИН ВРОДЖЕНОГО І НАБУТОГО ІМУНІТЕТУ В ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ У ХВОРИХ НА ГЛІАЛЬНІ ПУХЛИНИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Лісяний Н.І., Гнедкова І.О., Лісяний А.О., Васлович В.В., Кот Л.А., Гнедкова М.А.

ДУ «Інститут нейрохірургії ім. А.П. Ромоданова», Київ.

Метою досліджень було вивчити склад і співвідношення клітин що відносяться до вродженої і адаптивної імунної системи в периферичній крові хворих на пухлини головного мозку різної гістоструктури.

Матеріал і методи досліджень. Вивчено показники периферичної крові 67 хворих на пухлини головного мозку різного гістогенезу і гістоструктури. Визначення показників периферичної крові проводилося на автоматичному гематологічному аналізаторі Mindray 3000 plus. Визначалися: абсолютний вміст (АВ) тромбоцитів(Тр), нейтрофілів(Нф) і лімфоцитів (Лф), а також співвідношення АВ Тр до АВ Лф (Тр/Лф), співвідношення АВ Тр до АВ Нф (Тр/Нф) і співвідношення відсоткового вмісту (ВВ) нейтрофілів до ВВ Лф (Нф/Лф).

Результати. Була встановлена активація гранулоцитарного паростка гемопоезу хворих на нейроectодермальні оми). Абсолютна кількість Нф збільшувалася паралельно збільшенню ступеня анаплазії гліом Співвідношення Тр/Лф було достовірно вище у хворих на гліобластоми, в порівнянні з відповідними значеннями у хворих на астроцитомі фібриллярно-

протоплазматичні. Відсотковий вміст лімфоцитів у хворих на аденоми гіпофіза практично не відрізнявся від групи порівняння. Паралельно збільшення ступеня анаплазії гліомы достовірно збільшувалися показники Тр/Лф і Нф/Лф, знижувалася співвідношення Тр/Нф.

Висновки:

1. Вміст в крові Нф і Лф у хворих на пухлини головного мозку залежить від гістогенезу пухлини і ступеня злоякісності.

2. При злоякісних пухлинах – гліобластомах, достовірно збільшується відносний показник Тр/Лф, в порівнянні з доброякісними пухлинами, що може бути додатковим критерієм оцінки ступеня анаплазії гліомы.

3. Відносні показники: співвідношення клітин периферичної крові Тр / Лф, Тр / Нф, Нф / Лф, певною мірою відображають стан окремих ланок вродженого і набутого імунітету і можуть слугувати додатковими показниками прогнозу клінічного перебігу пухлинного процесу і ефективності проведенного лікування.

Ключові слова: вроджений і адаптивний імунітет, тромбоцити, нейтрофіли, лімфоцити, гематологічні індекси.

SUMMARY

Content CELLS OF INNATE AND ADAPTIVE IMMUNITY IN PERIPHERAL BLOOD IN PATIENTS WITH BRAIN TUMORS

Lisyanii N.I., Gnedkova I.A., Lisyanii A.O., Vaslovich V.V., Kot L.A., Gnedkova M.A.

GD "Romodanov Neurosurgery Institute", Kyiv

The aim of this study to investigate the composition and ratio of innate and adaptive immunity cells in peripheral blood in patients with brain tumors of different histogenesis and histostucture.

Objects and methods: The indicators of peripheral blood of 67 patients with brain tumor of different histostucture have been analyzed. The indicators of peripheral blood of 28 patients with diseases of central nervous system (CNS) non-tumor genesis served as the control group. The definition of the indicators peripheral blood were estimated by means of automatic haematologic analyzer Midray 3000 plus. The absolute and relative indicators of the content platelets (PLT), neutrophils (Nph) and lymphocytes (Ly) were evaluated. The comparison was made ration between absolute quantity (AQ) PLT and AQ Lph (PLT/Ly), the ration AQ PLT and AQ Nph (PLT/Nph). Ratio of percentage (Pg) content Nph were compared with Pg content Ly (Nph/Ly) peripheral blood.

Results. The activation of granulocytod germ of hemopoiesis patients with neuroectodermal in comparison with the indicators of control group has been established. The absolute content of Nph showed a tendency increase upon malignant gliomas. Ratio PLT/Nph was higher significant in patients with glioblastomas in comparison with data upon gliomas low grade anaplasia.

Conclutions:

1. Pg content of Ly with pituitary adenomas was not differ from data of control group by facts a increase of the level anaplasia glioma cases increase the ratio PLT/Ly and Nph/Ly and reduction the ratio PLC/Nph.

2. Relative index PLT/Nph the significant increase upon malignant tumors (glioblastoma) in comparison with data of tumors of low-grade anaplasia. This fact can be informative for estimation of the level anaplasia glioma.

3. Relative index: ratio of cell peripheral blood PLT/Nph, PLT/Ly, Nph/Ly reflects the condition of individual group of innate and adaptive immunity. It is possible that such investigation can be useful for prognosis clinical course and the efficiency of treatment by medication.

Key words: innate and adaptive immunity, platelets, neutrophils, lymphocytes, brain tumor, hematological indices.