

УДК 616 – 006.484.04

ИММУННЫЙ ПРОФИЛЬ ДИФFUЗНЫХ АСТРОЦИТАРНЫХ ОПУХОЛЕЙ ВЫСОКОЙ СТЕПЕНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА РАЗВИТИЕ РЕЦИДИВОВ

Чертенко Т.Н., Яковцова И.И.

Харьковская медицинская академия последипломного образования, г. Харьков, Украина, e-mail: taisiachertenko@gmail.com

Резюме. Наша работа была направлена на изучение иммунного профиля диффузных астроцитарных опухолей высокой степени злокачественности с целью выявления факторов, влияющих на прогноз данного заболевания. Для этого мы отобрали 30 случаев впервые выявленных глиобластом и анапластических астроцитом. Материал был разделен на 2 группы: 15 случаев опухолей, которые дали рецидив в течение года после операции и 15 случаев опухолей, не давших рецидива или летального исхода в течение года после операции. Изучались клинические данные пациентов, гистологическая структура опухолей и экспрессия маркеров CD3, CD4, CD8 и CD68. В результате исследования мы получили следующие данные: опухоли с иммунным профилем CD3(0-1)/CD4(2-3)/CD8(2-3) имеют меньшую вероятность рецидива в течение года (критерий Фишера = 0,01869, $p < 0,05$); достоверно чаще рецидивируют в течение года опухоли с экспрессией CD68(2-3) (критерий Фишера = 0,037, $p < 0,05$) и солидные опухоли с иммунным профилем CD3(2-3)/CD8(0-1) (критерий Фишера = 0,04981, $p < 0,05$).

Ключевые слова: глиобластома, анапластическая астроцитома, иммунные реакции в глиобластомах, иммуногистохимия глиобластом.

Ключові слова: гадючник шестипелюстковий, фази вегетації, полісахариди, сума поліфенолів, таніни, аскорбінова кислота, органічні кислоти, біологічно активні речовини.

Введение. Диффузные астроцитомы высокой степени злокачественности относятся к группе диффузных глиом [1] и являются самыми распространенными первичными внутримозговыми опухолями [18]. Так на долю глиобластом приходится, по разным источникам, 12-15% всех первичных опухолей ЦНС [18,19]. Несмотря на прогресс в медицине, прогноз для диффузных астроцитом высокой степени злокачественности остается неутешительным. Согласно данным многочисленных ретроспективных исследований, менее

20% пациентов с глиобластомой живет более одного года после постановки диагноза и операции, дольше трех лет живут менее 3% [9, 10]. Средняя продолжительность жизни пациентов с глиобластомой составляет 14,2 месяца [8].

Иммунотерапевтический подход показал высокую эффективность в лечении злокачественных образований других органов и систем [8]. Однако головной мозг из-за наличия гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) и отсутствия лимфатических сосудов традиционно считался иммунологически привилегированным органом. Исследования последних лет показали, что активированные иммунные клетки могут проникать через ГЭБ в зоне опухоли. Это связано с тем, что ГЭБ в ткани опухоли становится неполноценным из-за патологического ангиогенеза. Тем не менее, роль иммунной системы в развитии глиом высокой степени злокачественности остается дискуссионной. Связано это как с тем, что глиобластомы синтезируют целый ряд факторов, подавляющих иммунный ответ, так и с тем, что некоторые субпопуляции иммунных клеток способны стимулировать опухолевый рост, а не подавлять его. Тем не менее, ряд исследователей отмечают, что пациенты с активной пролиферацией Т-клеточного ростка и высокой экспрессией маркера CD-8 в ткани опухоли демонстрируют лучшую выживаемость, чем пациенты, у которых эти явления отмечены не были [7]. Более того, было доказано, что клетки опухолевой микроглии могут играть роль антиген-презентирующих клеток. Причем плотность опухолевой микроглии в глиомах выше, чем плотность микроглии в перитуморозной зоне и в нормальном мозге. Ее плотность возрастает с увеличением степени злокачественности опухоли [2,3,4] и составляет около 30% ткани глиобластом[2,5,6].

Обоснование исследования. Как уже было сказано выше, информация относительно иммунного профиля диффузных астроцитом высокой степени злокачественности является

не полной и все еще мало изученной. Хотя знания этих особенностей может быть принципиально важно как для прогнозирования течения опухолевого процесса, так и для разработки эффективной иммунотерапии злокачественных глиом. В немногочисленных статьях, посвященных этой проблематике, авторы изучают либо антиген-презентирующие свойства макроглии и роль макрофагального звена в прогрессии опухолей [2,3,4], либо – отдельные свойства Т-клеточного роста [7,8,11]. В своих работах авторы мало уделяют внимания клиническим данным и таким морфологическим особенностям опухолей, как наличие или отсутствие кист. Хотя по данным Gurginder Kaur, Bloch O. A [17], наличие кист ассоциировано с лучшим прогнозом.

Все выше перечисленное свидетельствует о важности изучения иммунного профиля злокачественных глиом и необходимости комплексного анализа его Т-лимфоцитарного и макрофагального компонентов, с учетом морфологических и клинических данных.

Цель. Целью нашей работы было выявление прогностически важных особенностей диффузных астроцитом высокой степени злокачественности на основе изучения экспрессии маркеров Т-клеточного (CD3, CD4, CD8) и макрофагального звена (CD68) иммунитета.

Материалы и методы. 1. Общие сведения об отобранном опухолевом материале. Для анализа иммунного профиля диффузных астроцитом высокой степени злокачественности мы отобрали блоки с постоперационным материалом 30 пациентов, впервые прооперированных по поводу глиобластомы или анапластической астроцитомы. Критериями включения пациентов в группу, помимо диагноза, были пригодность материала для проведения иммуногистохимического исследования и наличие сведений о пациенте в течение года и более после операции. Блоки были отобраны за период с 2011 по 2016 годы в патоморфологических отделениях Харьковской областной больницы и Харьковской городской клинической больницы №7. Дополнительно у отобранных пациентов изучались медицинские карты стационарного больного. Были проанализированы такие параметры, как пол, возраст, гистологическое заключение, локализация опухолевого процесса, интраоперационный вид опухоли, а именно наличие или отсутствие в ней кистозного компонента.

Отобранный материал был разделен на 2 группы: 1-я группа включала 15 пациентов, у которых в течение года после операции наблюдался рецидив опухоли, 2-я группа со-

стояла из 15 пациентов, которые оставались живы в течение года после операции и не имели рецидива в этот период. Всего в исследование было включено 12 пациентов женского и 18 пациентов мужского пола. Средний возраст пациентов составлял – $53,17 \pm 11,8$ лет.

Таблица 1

Характеристика исследуемых групп

Группа	1 группа	2 группа
Признак		
Пол		
М	9 (60%)	9 (60%)
Ж	6 (40%)	6 (40%)
Возраст		
М±σ	50,13±10,86	56,2±12,295
Кистозный компонент		
Есть	7 (47%)	6 (40%)
Нет	8 (53%)	9 (60%)
Grade (степень злокачественности)		
III	1 (7%)	3 (20%)
IV	14 (93%)	12 (80%)

2. Иммуногистохимическое исследование. Иммуногистохимическое исследование проводилось с использованием непрямого пероксидазно-антипероксидазного метода. С предварительно отобранных парафиновых блоков были сделаны срезы толщиной 4-5 мкм. Срезы помещались на покрытые поли-L-лизином стекла, после чего проводилось депарафинирование и регидратация в TBS (Dako TBS, S196830, добавить 0,05% Tween 20). Далее все этапы проведения иммуногистохимической реакции осуществлялись согласно протоколу Dako для ручного метода иммуногистохимического исследования. В качестве первичных антител использовались моноклональные антитела: CD3 early T-cell marker, 1:150 (ThermoScientific, США), CD4 clone 4B12, ready-to-use (Dako, Дания), CD8 clone SP16, 1:50 (ThermoScientific, США), CD68 clone KP1, ready-to-use (Dako, Дания). Дополнительно осуществлялось окрашивание ядер клеток с помощью гематоксилина Майера. Использовали внешний позитивный контроль с тканью лимфоузлов. Дифференцированное окрашивание тканей служило внутренним контролем.

Оценка реакции проводилась полуколичественным методом. Учитывалась интенсивность окраски и количество антиген-позитивных клеток. Для этого на увеличении 400 делались микрофотографии секций каж-

дой исследуемой опухоли в 5 полях зрения с наибольшей концентрацией антиген-позитивных клеток в ткани опухоли («горячий очаг»). Для микрофотографий использовался микроскоп ZEISS Primo Star и камера ZEISS AxioCam ERc 5. Все фотографии делались при одинаковых условиях освещения. Для более точной оценки микрофотографий использовалась программа Adobe Photoshop, Version 2015.1.2.[19]. Реакция считалась негативной, если антиген-позитивные клетки отсутствовали («0»), слабопозитивной («1»), если окрашены были лишь единичные клетки в ткани опухоли, умереннопозитивной («2») – окрашено менее 30% клеток в «горячих очагах», сильнопозитивной («3») – окрашено более 30% клеток в «горячих очагах».

3. Методы математической статистики. Для анализа количественных показателей нами использовались методы математической статистики. Определялось среднее арифметическое, среднее квадратическое отклонение. Учитывая малый размер выборки, связь между признаками определяли с использованием точного критерия Фишера. Для описания качественных характеристик мы использовали экстенсивный показатель (%). Расчеты выпол-

няли с помощью пакета «Microsoft Excel 2010». Статистическую обработку результатов исследования проводили по общепринятым методикам с использованием пакета «Statistica 10.0». Достоверными считались результаты при $p < 0,05$.

Результаты. На 1-м этапе проведения исследования нами было изучено влияние каждого из звеньев клеточного иммунитета (CD3, CD4, CD8, CD68) на возникновение рецидива в течение года. Оценивалась роль умеренно позитивной и сильно позитивной экспрессии каждого из маркеров в возникновении рецидивов в течение года. Статистически значимый результат получен был только для макрофагального маркера CD68.

Таблица 2

Расчет критерия Фишера

	Рецидив	Нет	
CD 68 («2», «3»)	11	5	16
CD 68 («0», «1»)	4	10	14
	15	15	30

Критерий Фишера =0,037, $p < 0,05$

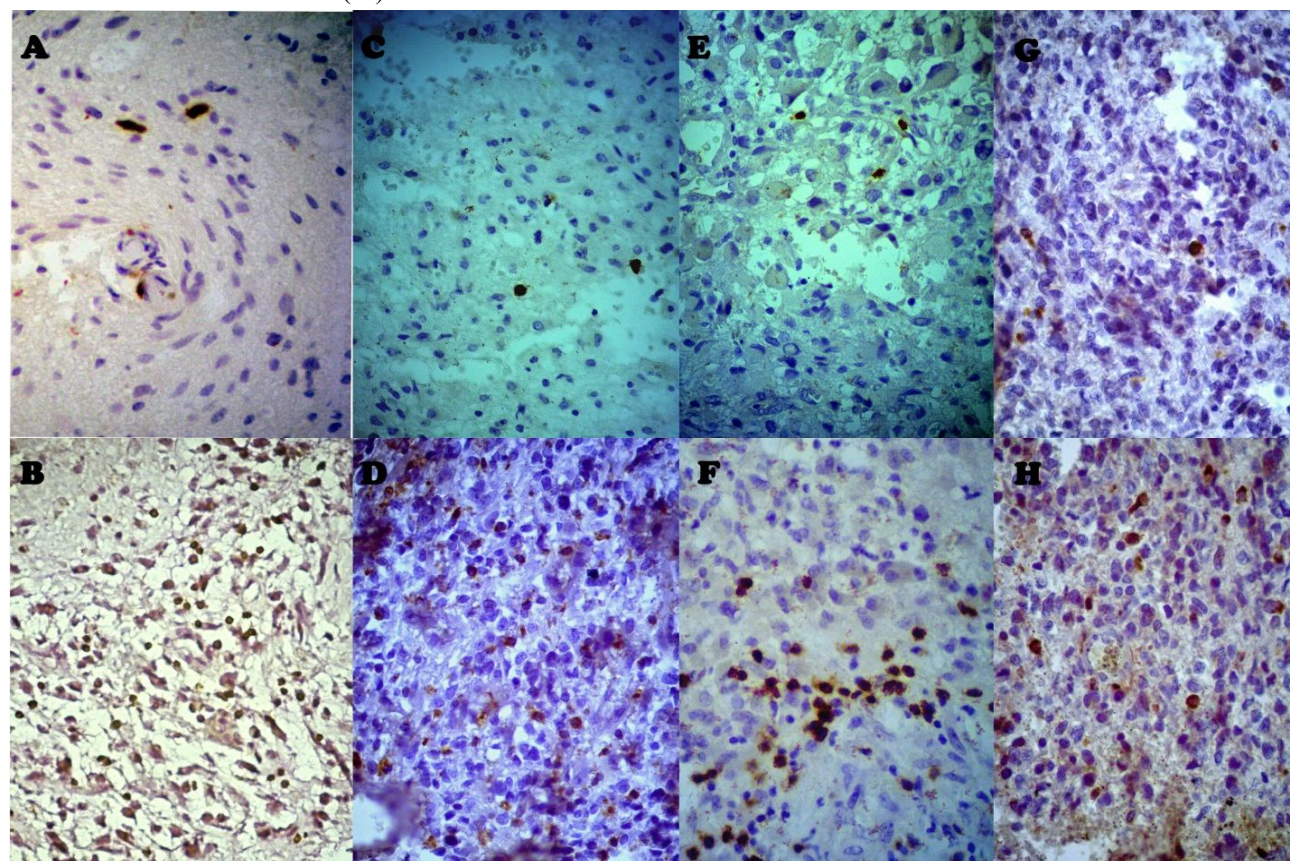


Рис. 1. Инфильтрация иммунными клетками в ткани опухоли, ИГХ метод, дополнительная окраска гематоксилином Майера (x400) А. Низкая экспрессия CD3 в глиобластоме В. Высокая экспрессия CD3 в глиобластоме С. Низкая экспрессия CD4 в глиобластоме D. Умеренная экспрессия CD4 глиобластоме Е. Низкая экспрессия CD8 в глиобластоме F. Высокая экспрессия CD8 в глиобластоме G. Низкая экспрессия CD68 в глиобластоме H. Высокая экспрессия CD68 в глиобластоме

Следовательно, при выявлении экспрессии маркера CD68 «2» и выше в ткани опухоли рецидив в течение года наблюдается достоверно чаще, чем в опухолях, у которых экспрессия этого маркера слабопозитивна или отсутствует. При изучении экспрессии маркеров было отмечено интересное явление: 2 опухоли из тех, что дали рецидив в течение года, имели позитивную реакцию опухолевых астроцитов на CD3 (рис.2). Также в изученном материале у части опухолей наблюдалась экспрессия маркера CD68 опухолевыми астроцитами (рис.3А, Б). Однако учитывая малый характер выборки, сделать статистически достоверный вывод о роли этих явлений в течение опухолевого процесса не представлялось возможным.

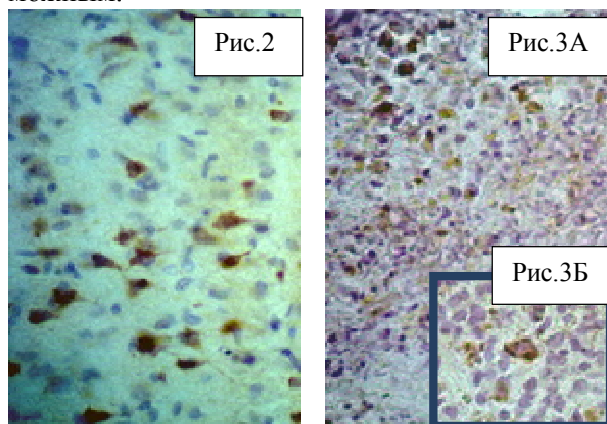


Рис. 2. Экспрессия маркера CD3 опухолевыми астроцитами в анапластической астроцитоме (X400). **Рис 3А, 3Б** Экспрессия маркера CD68 опухолевыми астроцитами в глиобластоме (X400)

Беря во внимание сложность иммунных механизмов защиты, мы решили также проверить роль сочетания сразу нескольких факторов на развитие рецидива в течение года. Нами были оценены сочетание экспрессии CD4 и CD8 (в различных соотношениях) с другими факторами и сочетание экспрессии CD3 и CD8 (в различных соотношениях) с другими факторами. В ходе проведенного анализа были выявлены лишь 2 статистически значимых сочетания факторов.

Присутствие одновременно трех факторов: низкой или отсутствующей экспрессии CD3 в сочетании с умеренно позитивной или сильно позитивной реакцией на CD4 и CD8 является благоприятным признаком и дает меньшую вероятность рецидива в течение 1-го года.

Вероятность рецидива в течение 1-го года выше в солидных опухолях с умеренной или высокой экспрессией CD3 на фоне низкой или отсутствующей экспрессии CD8.

Таблица 3

Расчет критерия Фишера

	Нет рецидива	Рецидив	
CD3 (0-1)/ CD4 (2-3)/CD8(2-3)	7	1	8
Остальные опухоли	8	14	22
	15	15	30

Критерий Фишера= 0,01869, $p < 0,05$

Таблица 4

Расчет критерия Фишера

	Рецидив	Нет	
CD3 (2-3)/ CD8 (0-1), нет кист	4	0	4
Остальные опухоли	11	15	26
	15	15	30

Критерий Фишера= 0,04981, $p < 0,05$

Независимая роль в развитии рецидивов таких показателей, как пол, возраст и наличие кист не выявлена. Также не было выявлено статистически достоверных различий в вероятном развитии рецидивов в течение года между пациентами с диффузными глиомами Grade III и пациентами с диффузными глиомами Grade IV (точный критерий Фишера=0,34866, $p > 0,05$). Однако, учитывая малое количество в нашей выборке пациентов с диффузными глиомами Grade III, данный показатель нуждается в отдельном анализе на больших выборках.

Обсуждение полученных результатов. В литературе существуют разрозненные данные о влиянии различных популяций иммунных клеток на течение опухолевого процесса. Так, например, некоторые авторы утверждают, что повышение уровня экспрессии CD3 является независимым фактором, свидетельствующим о лучшем прогнозе для пациентов с глиобластомой [11]. В нашем исследовании мы не смогли доказать роль экспрессии маркера CD3, как независимого фактора, влияющего на течение заболевания. Однако мы обнаружили, что опухоли с комплексом маркеров CD3(0-1)/CD4(2-3)/CD8(2-3), дают достоверно меньшее количество рецидивов в течение 1-го года (критерий Фишера = 0,01869, $p < 0,05$). Следовательно, подобную экспрессию маркеров можно считать благоприятным прогностическим фактором. Первоначально нам показался несколько необычным тот факт, что экспрессия главного маркера T-

лимфоцитов (CD-3) может быть ниже экспрессии маркеров субпопуляций Т-лимфоцитов: Т-хелперов (CD4) и Т-киллеров (CD8). Однако, изучая данные литературы, мы обнаружили, что существуют разные степени дифференцировки Т-лимфоцитов, и в части из них такие сочетания не редкость [12]. Но наиболее интересным нам показались данные исследования Jenny N. Penttila и соавт., которые обнаружили линию клеток с паттерном CD3⁻/CD4⁺/CD8⁺ у мышей, зараженных респираторной инфекцией. Клетки с таким паттерном сохраняли способность к пролиферации, но не могли секретировать гамма-интерферон [13]. Продолжая дальнейшее изучение научных данных, мы обнаружили информацию о том, что гамма-интерферон стимулирует увеличение количества лиганда PD-L1 в опухолевых клетках глиобластом [14,15]. PD-L1 входит в состав белка PD1, который помогает опухолевым клеткам избежать узнавания иммунной системой и следовательно защищает их от атаки иммунными клетками. Этот сложный каскад реакций дает нам основания предположить, что обнаруженная нами экспрессия CD3 в части опухолевых астроцитов является результатом проявления механизмов защиты опухоли от иммунной системы пациента, однако, учитывая малое количество объектов исследования, авторы не могут исключить ложноположительную реакцию.

Нами также была обнаружена экспрессия макрофагального маркера CD68 в части опухолевых астроцитов. Согласно данным литературы, это явление относится к неблагоприятным факторам прогноза [4]. А полученные нами данные относительно того, что уровень экспрессии CD68 (2-3) ассоциируется с большей вероятностью рецидива в течение года (критерий Фишера = 0,037, p < 0,05), совпадает с мировыми данными [4], где говорится, что высокая экспрессия CD68 связана с более плохим прогнозом.

В ходе нашего исследования мы установили, что сочетание таких факторов, как солидное строение опухоли, экспрессия маркера CD3(2-3) в сочетании с низкой или отсутствующей экспрессией маркера CD8, является неблагоприятным фактором. Данное сочетание признаков достоверно чаще обнаруживалось у опухолей, дающих рецидив в течение года (критерий Фишера = 0,04981, p < 0,05). Согласно данным литературы, большинство глиобластом имеет солидное строение [16], наличие же кистозного компонента характерно для глиом более низкой степени злокачественности [16], где по данным Gurvinder Kaur, Bloch

О. А, он ассоциирован с более благоприятным прогнозом [17]. Высокая экспрессия маркера CD3, как мы уже разобрали выше, может быть ассоциирована с активацией целого каскада противоиммунной защиты опухоли. А низкая экспрессия CD8 свидетельствует о слабой активности Т-киллеров и соответственно слабой противоопухолевой иммунной защите. Поэтому сочетание всех этих трех факторов и может служить неблагоприятным фактором прогноза развития злокачественных глиом.

Выводы. 1. Присутствие одновременно трех факторов: CD3 (0-1)/ CD4(2-3)/CD8(2-3) является благоприятным признаком и дает меньшую вероятность рецидива в течение 1-го года (критерий Фишера = 0,01869, p < 0,05).

2. Умеренно позитивная («2») и сильно позитивная («3») экспрессия CD68 ассоциирована с достоверно более частым рецидивированием опухоли в течение 1-го года (критерий Фишера = 0,037, p < 0,05).

3. Вероятность рецидива в течение года достоверно выше в солидных опухолях с экспрессией маркера CD3 («2», «3») в сочетании с экспрессией маркера CD8 («0», «1») (критерий Фишера = 0,04981, p < 0,05).

Перспективы дальнейших исследований. Все полученные авторами данные требуют более глубокого всестороннего исследования иммунного профиля злокачественных глиом на крупных выборках. Использование молекулярно-генетических и биохимических исследований позволит в будущем лучше понять особенности иммунной реактивности этих опухолей, а следовательно и способствуют разработке их эффективного иммуно-терапевтического лечения.

References:

1. Louis DN. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. / Louis DN, Perry A. // *Acta Neuropathol.* – 2016. – №131. – P. 803–820.
2. Roggendorf W. Distribution and characterization of microglia/macrophages in human brain tumours / Roggendorf W, Strupp S, Paulus W. // *Acta Neuropathol.* – 1996. – №92. – P. 288–293.
3. Morris CS. Immunocytochemical study of macrophages and microglial cells and extracellular matrix components in human CNS disease: gliomas. / Morris CS, Esiri MM. // *J Neurol Sci.* – 1991. – №101. – P. 47–58.
4. Tadej Strojnik. Prognostic Impact of CD68 and Kallikrein 6 in Human Glioma / Tadej Strojnik, Rajko Kavalari. // *Anticancer research.* – 2009. – №29. – P. 3269–3280.

5. Immunohistological study of mononuclear cell infiltrate in malignant gliomas. / Rossi ML, Hughes JT, Esiri MM etc.]. // *Acta Neuropathol.* – 1987. – №74. – P. 269–277.
6. Judy Choi. Glioblastoma cells induce differential glutamatergic gene expressions in human tumor-associated microglia/macrophages and monocyte-derived macrophages. / Judy Choi, Beate Stradmann-Bellinghausen. // *Cancer Biology & Therapy.* – 2015. – №16. – P. 1205–1213.
7. Haouraa Mostafa. Immune phenotypes predict survival in patients with glioblastoma multiforme. [Електронний ресурс] / Haouraa Mostafa, Andrej Pala, Josef Högel // *Journal of Hematology & Oncology.* – 2016. – Режим доступу до ресурсу: DOI 10.1186/s13045-016-0272-3.
8. Neha Kamran. Immunosuppressive myeloid cells' blockade in the glioma microenvironment enhances the efficacy of immune-stimulatory gene therapy. / Neha Kamran, Padma Kadiyala, Meghna Saxena. // *Molecular Therapy.* – 2017. – Vol. 25. №1.
9. Ohgaki H. Genetic pathways to glioblastoma: a population-based study. / Ohgaki H, Dessen P, Jourde B. // *Cancer Res.* – 2004. – №64. – P. 6892–6899.
10. Ohgaki H. Population-based studies on incidence, survival rates, and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas. / Ohgaki H, Kleihues P. // *J Neuropathol Exp Neurol.* – 2005. – №64. – P. 479–489.
11. Justyna Kmiecik. Elevated CD3+ and CD8+ tumor-infiltrating immune cells correlate with immunosuppressive at the systemic level prolonged survival in glioblastoma patients despite integrated mechanisms in the tumor microenvironment and at the systemic level. / Justyna Kmiecik, Aurélie Poli. // *J of Neuroimmunology.* – 2013. – №264. – P. 71–83.
12. Diagnostic Techniques in Hematological Malignancies / In W. Erber. – Cambridge: Cambridge University Press, 2010. – P. 133.
13. Jenni M. Penttila. Expansion of a Novel Pulmonary CD3- CD4+ CD8+ Cell Population in Mice during Chlamydia pneumoniae Infection. / Jenni M. Penttila, Reijo Pyhala. // *Infection and immunity.* – 1998. – Vol. 66. №7. – P. 3290–3294.
14. Lou Yongli. Function of PD-L1 in antitumor immunity of glioma cells. / Lou Yongli, Shi Jin. // *Saudi Journal of Biological Sciences.* – 2017. – №24. – P. 803–807.
15. Kyu Sang Lee. Prognostic relevance of programmed cell death ligand 1 expression in

glioblastoma [Електронний ресурс] / Kyu Sang Lee, Kyoungyul Lee // *Journal of Neuro-Oncology* – Режим доступу до ресурсу: <https://doi.org/10.1007/s11060-017-2675-6>.

16. Choi SJ. The radiologic features of cystic versus noncystic glioblastoma multiforme as significant prognostic factors. / Choi SJ, Hwang HY. // *J Korean Soc Radiol.* – 2010. – №63. – P. 299–306.
17. Gurvinder Kaur. A critical evaluation of cystic features in primary glioblastoma as a prognostic factor for survival / Gurvinder Kaur, Bloch O. A. // *J Neurosurg.* – 2011. – №115. – P. 754–759.
18. WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. / Louis D.N., Ohgaki H, Wiestler O.D etc.]. – Lyon: IARC, 2007.
19. Hans-Anton Lehr. Application of photoshop-based image analysis to quantification of hormone receptor expression in breast cancer. / Hans-Anton Lehr, David A. Mankoff. // *Journal of Histochemistry & Cytochemistry.* – 1997. – Vol.45. №11. – P. 1559–1565.

УДК 616 – 006.484.04

ІМУННИЙ ПРОФІЛЬ ДИФУЗНИХ АСТРОЦИТАРНИХ ПУХЛИН ВИСОКОГО СТУПЕНЯ ЗЛОЯКІСНОСТІ ТА ЙОГО ВПЛИВ НА РОЗВИТОК РЕЦИДИВІВ

Чертенко Т.Н., Яковцова І.І.

*Харківська медична академія післядипломної освіти, м. Харків, Україна,
e-mail: taisiachertenko@gmail.com*

Резюме. Наша робота присвячена дослідженню імунного профілю дифузних астроцитарних пухлин високого ступеня злоякісності. Головною метою було виявлення факторів, що впливають на прогноз захворювання. Для досягнення встановленої мети нами було відібрано 30 випадків гліобластом та анапластичних астроцитом (всім пацієнтам цей діагноз було встановлено вперше). Відібраний матеріал був розподілений на 2 рівні групи: 15 випадків пухлин, які дали рецидив протягом року після оперативного втручання, та 15 випадків, які не мали рецидиву чи летального результату протягом року після оперативного втручання. Автори вивчали клінічні дані пацієнтів, гісто-

логічну структуру пухлин та експресію маркерів Т-кітинної (CD3,CD4,CD8) та макрофагальної (CD68) ланок імунітету. У результаті дослідження нами були встановлені наступні закономірності: пухлини з імунним профілем CD3(0-1)/CD4(2-3)/CD8(2-3) мають меншу вірогідність рецидиву протягом року (критерій Фішера = 0,01869, $p < 0,05$); достовірно частіше рецидивують протягом року пухлини з експресією CD68(2-3) (критерій Фішера = 0,037, $p < 0,05$) та солідні пухлини з імунним профілем CD3(2-3)/CD8(0-1) (критерій Фішера = 0,04981, $p < 0,05$).

Ключові слова: гліоблостома, анапластична астроцитостома, імунні реакції в гліоблостомах, імуногістохімія гліобластом.

UDC 616 – 006.484.04

IMMUNE PROFILE OF HIGH – GRADE DIFFUSE ASTROCYTIC TUMORS AND ITS INFLUENCE ON TUMOR PROGRESSION

T.N. Chertenko, I.I. Yakovtsova

Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkiv, Ukraine
e-mail: taisiachertenko@gmail.com

Abstract. Immunotherapeutic treatment has shown great efficiency in the therapy of different malignancies. The central nervous system (CNS) was considered an immunological privileged organ, but new data has changed this dogma. There is an evidence for permeability of the blood-brain barrier (BBB) for immune cells under conditions of tumor growth, such as in gliomas. Arming the immune system to mount a strong anti-tumor response in high grade gliomas is an aim of many research projects therefore investigation of immune profiles of gliomas is very important nowadays.

Objective. The study of expression of CD3, CD4, CD8 and CD68 markers in high-grade gliomas.

Methods. The research is based on histological and immunohistochemical investigation of 30 biopsies of patients with newly diagnosed high-grade gliomas in the period from

2011 to 2016. All biopsy samples were taken from Kharkiv regional clinical hospital and Kharkiv city clinical hospital №7. Immunoreactivity was defined as a proportion of a labeled cells in hot spot areas of tumor that calculated in 5 fields of view (x400): high (3), more than 30% of cells positive for given markers in hot spot areas, moderate (2), less than 30% of cells positive for given markers in hot spot areas, low (1), only single cells are positive for given markers in hot spot areas, negative reaction (0).

Results. We compared histological samples and clinical data of 15 patients with newly diagnosed high-grade gliomas, which relapsed during the 1-st year after surgery, and samples of 15 patients, who did not have relapse or death during the 1-st year after surgery. According to our data only high or middle expression of CD68 can be count as an independent marker of poor prognosis (Fisher's exact test = 0,037, $p < 0,05$). Independent expression of CD3, CD4 and CD8 markers did not show any prognostic value, but we found that solid tumors with immune profile CD3(2-3)/CD8(0-1) give statistically more relapses as other types of high grade gliomas (Fisher's exact test = 0,04981, $p < 0,05$). In addition, we found a beneficial immune profile that was a marker of a better prognosis. It was CD3 (0-1)/CD4 (2-3)/CD8 (2-3) profile (Fisher's exact test Fisher's exact test = 0,01869, $p < 0,05$).

Conclusions. The present data show that combination of CD3(0-1)/CD4(2-3)/CD8(2-3) is a predictor of better clinical outcome in high-grade glioma patients (Fisher's exact test = 0,01869, $p < 0,05$), and combination of high or middle CD3 expression with low CD8 expression in solid high-grade gliomas is associated with higher rate of relapses during the 1-st year after surgery (Fisher's exact test = 0,04981, $p < 0,05$). CD68 high or middle expression can be used as an independent factor that tells about unfavorable prognosis for patients with malignant gliomas (Fisher's exact test = 0,037, $p < 0,05$).

Keywords: glioblastoma, anaplastic astrocytoma, immune profile of GBM, tumor-infiltrating cells, IHC in gliomas.

Стаття надійшла до редакції 06.04.2018 р.