

# ОСОБЕННОСТИ СУБПОПУЛЯЦИОННОЙ АРХИТЕКТониКИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ГЛИБЛАСТОМАМИ: ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА

Чумаков В.А.<sup>1</sup>, Пронина О.А.<sup>1</sup>, Качков И.А.<sup>1</sup>,  
Коршунов А.Г.<sup>3</sup>, Пинегин Б.В.<sup>4</sup>, Ананьева И.И.<sup>1</sup>, Elbeik T.<sup>5</sup>,  
Metelitsa L.S.<sup>7</sup>, Дорофеев А.Е.<sup>8</sup>, Гнучев Н.В.<sup>6</sup>, Сучков С.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия

<sup>2</sup>ММА им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

<sup>3</sup>Институт нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко РАМН, Москва, Россия

<sup>4</sup>ГНЦ "Институт иммунологии", Москва, Россия

<sup>5</sup>Laboratory of Microbiology, School of Medicine, UCSF, S-F, CA, USA

<sup>6</sup>Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

<sup>7</sup>Keck School of Medicine, University of Southern California, LA, CA, USA

<sup>8</sup>Отделение онкологии Павлово-Посадской ЦРБ Московской области

**Резюме.** При лечении больных с глиобластомами (ГБ) необходимо учитывать феномен ассоциированного с ГБ вторичного иммунодефицита (ВИД), получившего название синдрома опухолевоассоциированного ВИД (СОАВИД). В формировании СОАВИД большое значение играют клеточные субпопуляции, обладающие эффекторными и регуляторными функциями, а их количественное соотношение у больных с различными формами ГБ может иметь не только патогенетическую роль, но и определенную клиническую ценность при планировании лечебно-реабилитационных мероприятий. Исследовали наиболее значимые в патогенетическом и клиническом отношении параметры субпопуляционного состава клеток периферической крови у больных с различными клинико-морфологическими формами ГБ. Все пациенты распределялись на 3 группы: в первые две вошли больные с СОАВИД (группы I и II с выраженным и слабовыраженным ВИД, соответственно), в группу III – больные с ВИДОАС (опухолево-ассоциированным аутоиммунным синдромом в сочетании с ВИД). Для группы I характерна выраженная супрессия клеточного звена иммунитета – дисбаланс в составе Т-лимфоцитов и целого ряда отдельных субпопуляций и сложных субпопуляционных кластеров, а также формирование диспропорций в иммунорегуляторных индексах. В группе II картина субпопуляционного спектра крови имела минимальные отличия от значений нормы. У больных с ВИДОАС особенностями субпопуляционного спектра крови являлась активация клеточного звена иммунитета с формированием ВИД в сочетании с признаками аутоиммунного синдрома, затрагивающего как эффекторные, так и регуляторные звенья иммунитета и, в значительной степени, определяющего тяжесть заболевания и его прогноз. Выявленные особенности иммунного статуса у больных с ГБ могут быть

обусловлены неоднородностью клинико-морфологических вариантов опухоли и должны учитываться в дифференциальной диагностике клинических вариантов течения ГБ и при разработке клинико-иммунологических критериев рациональной противоопухолевой иммунофармакотерапии в пред- и послеоперационном периодах.

## Адрес для переписки:

Чумаков Владимир Александрович  
Москва, МОНИКИ им.М.Ф.Владимирского  
Тел.: 8-9036951658,  
E-mail: Vladichum@mail.ru;  
ssuchkov@online.ru

*Ключевые слова:* глиобластома, вторичный иммунодефицит, аутоиммунный синдром, субпопуляции, противоопухолевый иммунитет.

V.A. Chumakov, O.A. Pronina, I.A. Kachkov, A.G. Korshounov, B.V. Pineguin, I.I. Anan'eva, T.Elbeik, L.S. Metelitsa, A.E. Dorofeev, N.V. Gnouchet, S.V. Souchkov

# **SPECIFICITIES OF THE SUBSET PROFILE OF PERIPHERAL BLOOD IN PATIENTS WITH GLIOBLASTOMA: PATHOGENETIC AND CLINICAL ASSESSMENTS**

**Abstract.** In glioblastoma (GB), it is necessary to take into consideration GB-associated secondary immunodeficiency (SID), so-called syndrome of tumor-associated SID (STASID). Cell subsets having effector and regulatory functions, play an important role in developing STASID, and their proportions in patients with different forms of GB can be of pathogenetic importance and have clinical value for treatment and rehabilitation scheduling as well. The most pathogenetically and clinically important features of cell subsets profile of peripheral blood were analyzed in patients with different clinical and morphological types of GB. The patients were divided into three groups, i.e., groups I and II were formed by patients with STASID (marked and slightly marked SID, accordingly); group III – patients with SIDA (tumor-associated autoimmune syndrome, associated with SID). Marked suppression of cell immunity is typical of group I - imbalance in T-lymphocytes, in a number of specific subsets, and in subsets clusters, as well as disproportions in the immunoregulatory indexes. In group II, the subset profiles of blood were slightly different from the norm. In patients with SIDA, activation of cell immunity was evident, forming SID with signs of autoimmune syndrome, affecting effector and regulatory chains of immunity, and influencing the severity and forecast of the disease. Specific features of the immune status in patients with GB identified can be resulted from different clinical-morphological types of the tumor; the latter are to be considered in differential diagnostics of clinical course of GB and in scheduling of clinical-immunological efficient anti-tumor pharmacotherapy in pre- and postoperative periods. (*Med. Immunol.*, 2006, vol.8, № 1, pp 37-50)

## **Введение**

Для глиобластом (ГБ) головного мозга, отличающихся клинко-морфологическим разнообразием [2], характерна многостадийность, учитывающая интерференцию целого ряда патофизиологических механизмов и формирование определенной картины иммунопатологии [15]. Нейроонкологу в своей практике приходится сталкиваться с феноменом ассоциированного с ГБ вторичного иммунодефицита (ВИД), получившего название синдрома опухолевоассоциированного ВИД (СОАВИД), причем выраженность иммунологических сдвигов у таких пациентов может заметно различаться по глубине и спектру. Для больных с ГБ специфично существование, по меньшей мере, двух иммунофенотипов такого синдрома, отличающихся масштабом супрессии иммунной функции [5]. В формировании СОАВИД большое значение играют клеточные субпопуляции, обладающие эффекторными и регуляторными в отношении противоопухолевого иммунитета функциями и их количественное соотношение у больных с различными формами ГБ может иметь не только патогенетическую роль, но и определенную клиническую ценность при планировании лечебно-реабилитационных мероприятий.

Целью работы являлось сравнительное исследование наиболее значимых в патогенетическом и клиническом отношении параметров субпопуляционного состава клеток периферической крови у больных с различными клинко-морфологическими формами ГБ.

## **Материалы и методы**

**Биологические образцы.** Образцы крови 82 пациентов с диагнозом ГБ головного мозга, находящихся в предоперационном периоде, получены из нейрохирургического отделения МОНИКИ и нейроонкологического отделения НИИ нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко РАМН.

**Клинко-морфологическая характеристика больных.** Средняя продолжительность заболевания составила два месяца. Диагноз ставился на основании клинко-морфологических критериев, изложенных в классификации опухолей головного мозга [24], а также в соответствии с цитологической классификацией ГБ, включающей три основных гистотипа: изоморфноклеточная (ИМК ГБ), полиморфноклеточная (ПМК ГБ) и гемистокитарная (ГЦ ГБ) [2, 3]. Число случаев составило для ИМК ГБ, ПМК ГБ и ГЦ ГБ - 61%, 15% и 24%, соответственно. Характеристика пациентов по основным критериальным признакам отражена в таблице 1. Контрольную группу составили образцы крови 28 клинически здоровых доноров (ЗД).

**Исследование субпопуляционного состава** клеток периферической крови проводили в соответствии с разработанным ранее протоколом путем иммунофенотипирования субпопуляций CD1<sup>+</sup>, CD1d<sup>+</sup>, CD2<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD7<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, CD5<sup>+</sup>, CD7<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, CD9<sup>+</sup>, CD11b<sup>+</sup>, CD11c<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>CD163<sup>+</sup>, CD15<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD18<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>, CD21<sup>+</sup>, CD22<sup>+</sup>, CD23<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, CD27<sup>+</sup>, CD28<sup>+</sup>,

CD30<sup>+</sup>, CD31<sup>+</sup>, CD34<sup>+</sup>, CD36<sup>+</sup>, CD37<sup>+</sup>, CD38<sup>+</sup>, CD40<sup>+</sup>, CD44<sup>+</sup>, CD45<sup>+</sup>, CD45RA<sup>+</sup>, CD53<sup>+</sup>, CD54<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup>, CD57<sup>+</sup>, CD57<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, CD58<sup>+</sup>, CD60<sup>+</sup>, CD62L<sup>+</sup>, CD63<sup>+</sup>, CD68<sup>+</sup>, CD69<sup>+</sup>, CD81<sup>+</sup>, CD82<sup>+</sup>, CD86<sup>+</sup>19<sup>+</sup>, CD86<sup>+</sup>14<sup>+</sup>, CD94<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup>, CD158a<sup>+</sup>, CD158b<sup>+</sup> и CD2<sup>+</sup>CD150<sup>+</sup> на проточных цитометрах моделей FACS Calibur™ и FC500 фирм Beckton-Dickinson и Beckman-Coulter (США), а также Суан фирмы Dako Cytomation (Бельгия). В качестве типизирующих реагентов использованы моноклональные антитела фирм “Протеиновый контур” (Санкт-Петербург, Россия), DAKO Cytomation (Бельгия) и Beckton-Dickinson (США), а также антитела, полученные от проф. А.Ю.Барышникова (РОНЦ РАМН, Москва, Россия), проф. А.В.Филатова (Институт иммунологии МЗ РФ, Москва, Россия), проф. L. Metelitsa (Keck School of Medicine, University of Southern California, LA, CA, USA) и др., имеющие соответствующие сертификаты.

Мононуклеарные клетки выделяли из периферической крови по методу А. Воуим [10], промывали и окрашивали соответствующими моноклональными антителами, конъюгированными с цитохромом, ФИТЦ или фикоэритрином. Определение CD69<sup>+</sup>-маркера осуществляли с помощью набора “Fast-Immune” (Becton-Dickinson, США); CD34<sup>+</sup>-маркера (мононуклеары с низкой плотностью) получали из цельной крови с использованием набора CEP-RATE LC CD34 KIT фирмы CellPro (США) - по методу А.Bohbot с соавт. [9] с использованием набора

CEPRATE LC CD34 (CellPro, США) содержание дендритных клеток (ДК), NK-клеток и ряда других субпопуляций – с учетом рекомендаций, изложенных в работах К. Willmann [44], L. Metelitsa [29], Т. Kanda с соавт. [23], Т. Takamoto с соавт. [37], Барышникова А.Ю. [1] и К. Toba с соавт. [39].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием критерия Стьюдента *t*.

## Результаты

Для больных с глиобластомой нами установлены две основные клиничко-иммунологические группы – с СОАВИД и опухолево-ассоциированным аутоиммунным синдромом в сочетании с ВИД (ВИДОАС) [49]. В структуре первой традиционной группы мы выделили два фенотипа – фенотип 1 с выраженным иммунодефицитом (СОАВИД 1) и фенотип 2 со слабовыраженным иммунодефицитом или его отсутствием (СОАВИД 2) [5]. Ни в одной из первых двух традиционных групп не обнаружено признаков аутоиммунных нарушений, тогда как в крови больных с ВИДОАС присутствовали антинейрональные и антимиелиновые аутоантитела, а содержание в крови В-лимфоцитов и иммуноглобулинов заметно превышало норму (табл.2).

Итоги исследований позволили распределить обследованных больных с диагнозом ГБ на 3 основные группы: в первые две (n=74) вошли больные с СОАВИД (фенотипы I и II), во вторую

Табл. 1. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ С ГЛИОБЛАСТОМОЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Параметр/критерий заболевания	Число больных	Доля (%)
Всего пациентов:		
Всего	82	100
- женщины	36	44
- мужчины	46	56
Длительность заболевания (месяцы):		
- менее 1	9	22
- от 1 до 5	31	76
- от 5 до 10	1	2
Распределение больных по функциональному статусу (по шкале Карновского):		
80 баллов и выше	52	63
60-70 баллов	16	20
50 баллов и ниже	14	17
Течение заболевания:		
Преобладание симптомов внутричерепной гипертензии	40	49
Преобладание очаговых неврологических нарушений	22	27
Преобладание судорожного синдрома	16	20
Преобладание симптомов энцефалопатии	4	5
Распределение больных по патоморфологическим критериям (по классификации А.В. Голанова, 1999*):		
ИМК ГБ	61	
ПМК ГБ	15	
ГЦ ГБ	24	

\*Голанов А.В. Глиобластомы больших полушарий головного мозга: результаты комбинированного лечения и факторы, влияющие на апоптоз // Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. - М., 1999.

(n=8) – пациенты с опухолево-ассоциированным аутоиммунным синдромом в сочетании с вторичным иммунодефицитом (ВИДОАС). Результаты дальнейших исследований субпопуляционной архитектуры у больных всех трех групп отражены в таблицах 3-7.

#### Больные с СОАВИД (фенотипы I и II)

Для пациентов с СОАВИД (главным образом, с фенотипом 1), составляющих более 90% от всех случаев с глиобластомой и имеющих значительное сходство в картинах иммунопатоархитектоники, ключевыми особенностями являлись:

(а) уменьшение содержания в крови значительной части субпопуляций дендритных клеток с соответствующими фенотипами;

(б) супрессия эффекторных звеньев иммунитета со снижением удельного веса фагоцитирующих клеток и НК-клеток с соответствующими фенотипами, а также В-лимфоцитов с рядом канонических и неканонических фенотипов;

(в) усиление проапоптотической активности лимфоцитов (за счет роста доли клеток с фенотипом CD95<sup>+</sup>);

(г) снижение уровня иммунорегуляторного контроля и формирование диспропорций в иммунорегуляторных индексах (сокращение численности как общих CD3<sup>+</sup>, так и регуляторных лимфоцитов, сопряженное с возрастанием степени дисбаланса среди вспомогательных клеток с функциями контроля и надзора; заметное сокращение ИРИ по сравнению с группой доноров; обеднение пула клеток с активационными и стимулирующими фенотипами; значитель-

Табл.2. ЛАБОРАТОРНЫЕ ПРИЗНАКИ АУТОИММУННОГО СИНДРОМА У БОЛЬНЫХ С ГЛИОБЛАСТОМОЙ

Критериальные параметры аутоиммунного синдрома	Здоровые доноры (ЗД)	Пациенты с:		
		СОАВИД		ВИДОАС (9%)
		I (61%)	II (30%)	
1. Наличие в крови онкомаркеров:				
NSE	-	±	-	+
AFP	-	-	-	-
CEA	-	±	-	±
1. Наличие в крови аутоантител к:				
MBP	-	-	-	+
MOG	-	-	-	±
MAG	-	-	-	±
2. Сывороточная концентрация иммуноглобулинов:				
IgG	N	↓	N	↑
IgM	N	N	N	↑
IgA	N	↓	N	N
IgE	N	N	N	N
3. Содержание в крови циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК):				
3%	-	-	-	±
4%	-	-	-	±
4. Содержание в крови:				
В-клеток				
CD5 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD19 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD20 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD22 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD71 <sup>+</sup>	N	↓	N	N
иммунорегуляторных клеток				
CD4 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD8 <sup>+</sup>	N	↑	N	N
CD25 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD38 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
HLA-DR <sup>+</sup>	N	↓	N	N
5. Иммунорегуляторный индекс (ИРИ): CD4/CD8	N	↓	N	↑

NSE, AFP и CEA – нейрон-специфическая енолаза, альфа-фетопроtein и раковоэмбриональный антиген, соответственно; MBP, MOG и MAG – основной белок миелина, гликопротеин миелиновых олигодендроцитов и кислый гликопротеин миелина, соответственно.

ный рост субпопуляций с фенотипами CD15<sup>+</sup>, CD24<sup>+</sup>, CD30<sup>+</sup>, CD44<sup>+</sup>, CD105<sup>+</sup>, CD151<sup>+</sup> и одновременное обеднение пулов CD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>, CD18<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, CD38<sup>+</sup>, CD54<sup>+</sup>, CD62L<sup>+</sup> и CD102<sup>+</sup> клеток.

Пациенты с наиболее тяжелыми в клинико-морфологическом и прогностическом отношении вариантами ГБ (ИМК ГБ, ПМК ГБ) сконцентрировались в группе с фенотипом СОАВИД I. В группе с фенотипом II картина субпопуляционного спектра крови имела минимальные отличия от значений нор-

мы, а в ряде случаев (главным образом, у больных с ГЦ ГБ) патологические сдвиги касались лишь отдельных параметров субпопуляционного спектра клеток периферической крови.

### Больные с ВИДОАС

Отличительными особенностями субпопуляционного спектра крови у больных с ВИДОАС являлись (табл. 3-7):

Табл.3. СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СПЕКТР КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНЫМИ КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИМИ ФОРМАМИ ГЛИОБЛАСТОМЫ

Субпопуляции клеток (в % к общему числу лейкоцитов)	Здоровые доноры (ЗД)	Пациенты с:		
		СОАВИД		ВИДОАС (9%)
		I (61%)	II (30%)	
CD1 <sup>+</sup> , %	6,8±1,2	14,8±2,2*	6,6±2,0**	7,0±2,2**
CD1b <sup>+</sup> , %	3,4±1,0	3,1±1,0**	3,8±1,1**	13,8±1,6**
CD1c <sup>+</sup> , %	2,2±0,6	11,1±0,4***	2,0±0,9**	15,2±1,4*
CD1d <sup>+</sup> , %	1,9±0,6	11,0±0,6**	2,0±0,6**	15,0±1,6*
CD2 <sup>+</sup> , %	6,8±1,2	14,9±2,1***	6,7±2,1**	7,0±1,0**
CD2 <sup>+</sup> CD150 <sup>+</sup> , %	3,4±1,0	11,5±1,0*	3,8±1,1**	15,9±1,1*
CD3 <sup>+</sup> , %	65,2±10,9	154,2±8,4*	63,4±7,0**	157,6±4,7***
CD3 <sup>+</sup> CD2 <sup>-</sup> , %	3,4±1,0	11,9±1,3*	3,6±1,0**	15,5±1,8***
CD4 <sup>+</sup> , %	38,2±6,6	132,1±4,0***	35,0±4,3**	141,7±5,4***
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> , % от CD4 <sup>+</sup> Т-клеток	17±3	112±3*	16±4**	119±4**
CD4 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> , % от CD4 <sup>+</sup> Т-клеток	7,5±2,5	8,4±4,1***	7,1±3,6**	8,1±3,5***
CD4 <sup>+</sup> CD45RO <sup>+</sup> , % (memory)	16,5±5,0	112,2±2,2*	15,9±5,3**	17,2±3,2**
CD4 <sup>+</sup> 45RA <sup>+</sup> , % (naïve)	12,2±4,4	11,2±3,5**	11,0±4,1**	10,2±6,1***
CD4 <sup>+</sup> CD7 <sup>-</sup> , %	3,8±1,1	11,8±1,1*	3,3±0,4**	15,6±1,4***
CD4 <sup>+</sup> CD7 <sup>-</sup> CD28 <sup>-</sup> , %	3,1±0,8	11,9±1,2*	3,3±0,3**	15,3±1,2***
CD5 <sup>+</sup> , %	10,7±2,8	16,9±2,3*	9,5±3,4**	112,7±5,1***
CD5 <sup>+</sup> CD72 <sup>+</sup> , %	3,8±1,1	11,9±1,1*	3,5±1,3**	15,4±1,6***
CD5 <sup>+</sup> CD27 <sup>+</sup> , %	3,1±1,0	12,1±1,1***	3,2±1,0**	15,8±1,6***
CD7 <sup>+</sup> , %	1,8±0,8	11,3±0,3***	1,7±0,5**	14,4±2,9*
CD8 <sup>+</sup> , %	70,3±10,2	177,8±11,8***	72,8±3,2**	65,5±5,2*
CD8 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> , % от CD8 <sup>+</sup> Т-клеток	68,3±6,9	170,9±11,2**	67,7±4,1**	71,9±3,4***
CD8 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> , % от CD8 <sup>+</sup> Т-клеток	25±5	128±7**	26±3**	28±6***
CD8 <sup>+</sup> CD28 <sup>-</sup> , % от CD8 <sup>+</sup> Т-клеток	6,5±1,2	14,4±2,2***	6,2±2,0**	7,1±3,2***
CD11:				
CD11b <sup>+</sup> , %	12,2±4,4	17,3±2,0*	11,5±3,6**	114,7±2,1**
CD11c <sup>+</sup> , %	22,2±9,4	19,8±3,4*	20,0±4,6**	125,3±5,6**
CD14 <sup>+</sup> , %	18,7±7,7	111,2±5,0**	17,9±4,1**	17,3±5,2**
CD14 <sup>+</sup> CD163 <sup>+</sup>	2,3±1,2	12,0±1,1**	2,2±1,6**	2,5±1,4**
CD14 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup>	2,9±1,0	12,1±0,7**	2,6±0,8**	2,8±0,9**
CD14 <sup>+</sup> CD86 <sup>+</sup>	3,4±1,0	11,8±1,1*	3,8±1,1***	15,8±1,6**
CD15 <sup>+</sup> , %	11,1±3,4	113,8±3,2***	10,1±3,9**	122,1±5,0*
CD16 <sup>+</sup> , %	20,8±4,9	115,9±2,6*	118,3±6,8***	116,2±4,9***
CD18 <sup>+</sup> , %	14,2±5,8	18,3±2,6*	13,1±3,1**	119,2±4,3***
CD19 <sup>+</sup> , %	11,8±4,9	19,5±2,2**	11,2±4,2**	113,2±4,2***
CD20 <sup>+</sup> , %	10,2±5,3	19,3±3,0**	11,2±6,3**	112,0±2,0***
CD19 <sup>+</sup> CD20 <sup>+</sup> CD86 <sup>+</sup> , %	3,8±1,6	12,2±1,3*	3,5±1,2**	14,9±2,6***
CD19 <sup>+</sup> CD20 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> , %	3,2±1,2	12,0±1,0***	2,9±1,1**	15,4±2,6*
CD21 <sup>+</sup> , %	4,2±0,8	12,9±0,8*	4,0±0,9**	17,2±2,0*
CD22 <sup>+</sup> , %	13,2±1,9	18,1±2,3*	14,2±2,5**	12,4±5,1***
CD23 <sup>+</sup> , %	2,7±0,6	2,8±1,2**	2,8±1,6**	14,2±2,2*
CD24 <sup>+</sup> , %	0,7±0,1	11,1±0,6**	0,8±0,2**	12,9±1,8*
CD25 <sup>+</sup> , %	3,4±1,2	11,7±0,9*	3,4±1,0**	16,1±2,4*

**Примечание:** Различия между показателями больных и здоровых доноров статистически достоверны (\* – p<0,001; \*\* – p<0,05; \*\*\* – p<0,01)

(а) увеличение доли большинства субпопуляций дендритных клеток;

(б) дисбаланс в составе эффекторных и регуляторных звеньев В-клеточного иммунитета, проявляющий себя, в отличие от СОАВИД, в увеличении содержания в крови ряда конкретных субпопуляций В-лимфоцитов (за исключением клеток с фенотипами CD7<sup>+</sup>, CD21<sup>+</sup> и CD27<sup>+</sup>, сохраняющихся в границах нормы);

(в) на фоне истощения цитотоксических кластеров отмечается рост в содержании отдельных, неканонических (CD4<sup>+</sup>CD7<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD7<sup>+</sup> CD28<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>CD94<sup>+</sup>

и CD8<sup>+</sup>CD158<sup>+</sup>) субпопуляций цитотоксических клеток и клеток макрофагально-моноцитарной линии дифференцировки, обладающих, помимо традиционных, иными эффекторными функциями[27];

(г) дисбаланс в составе иммунорегуляторных субпопуляций с тенденцией к формированию признаков аутоиммунного синдрома (при снижении клеток-супрессоров и одновременном возрастании клеток-хелперов и, соответственно, увеличением ИРИ отмечен устойчивый рост субпопуляций, несущих основные костимуляторные молекулы и экспрессирующих маркеры ранней и поздней актива-

Табл. 4. СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СПЕКТР КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНЫМИ КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИМИ ФОРМАМИ ГЛИОБЛАСТОМЫ

Субпопуляции клеток (в % к общему числу лейкоцитов)	Здоровые доноры (ЗД)	Пациенты с:		
		СОАВИД		ВИДОАС (9%)
		I (61%)	II (30%)	
CD27 <sup>+</sup> , %	8,2±2,4	17,4±2,1**	8,1±2,3**	112,4±3,1*
CD28 <sup>+</sup> , %	10,2±2,1	17,9±2,2***	9,9±2,0**	114,0±1,7*
CD30 <sup>+</sup> , %	15,1±4,3	112,0±3,1***	14,1±2,1**	118,9±2,9*
CD38 <sup>+</sup> , %	42,8±4,9	130,8±8,1*	41,3±7,0**	149,0±11,1***
CD44 <sup>+</sup> , %	16,5±5,0	120,1±4,3***	18,4±5,2***	132,4±7,2*
CD45 <sup>+</sup> , %	6,8±1,2	14,6±2,2*	6,8±2,0**	7,1±3,2**
CD45RO <sup>+</sup> , %	3,4±1,0	11,9±1,1*	3,6±1,1**	15,6±1,6***
CD45RA <sup>+</sup> , %	3,4±1,0	3,6±1,1**	3,5±1,1**	16,2±1,6*
CD54 <sup>+</sup> , %	1,8±0,6	11,4±0,7**	1,7±0,5**	12,3±1,0***
CD56 <sup>+</sup> , %	18,8±5,6	112,2±4,9*	17,9±3,1**	17,6±4,4**
CD57 <sup>+</sup> , %	6,8±1,2	14,8±2,2***	6,6±2,0**	7,0±3,2**
CD57 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> , %	12,2±4,1	18,1±2,2*	110,6±4,1**	111,7±3,1**
CD58 <sup>+</sup> , %	11,8±4,4	18,4±2,3***	10,6±2,0**	12,3±3,2**
CD62L <sup>+</sup> , %	7,8±2,6	15,9±2,0***	7,9±1,5**	7,9±2,5**
CD64 <sup>+</sup> , %	6,8±1,2	7,0±2,2**	6,6±2,0**	7,1±3,2**
CD68 <sup>+</sup> , %	12,7±2,6	19,9±2,4*	11,5±4,6**	18,1±3,5*
CD69 <sup>+</sup> , %	38,8±6,9	130,3±3,3***	37,1±5,3**	144,2±11,1*
CD70 <sup>+</sup> , %	10,3±2,7	11,4±2,1***	9,4±1,5**	113,0±2,3*
CD71 <sup>+</sup> , %	6,8±1,2	15,4±2,0*	6,5±1,1**	7,1±2,72**
CD80 <sup>+</sup> , %	11,2±3,4	19,3±2,0***	11,1±2,2**	116,4±3,2*
CD86 <sup>+</sup> , %	12,0±4,1	18,9±2,6*	11,0±3,4**	118,1±4,0*
CD94 <sup>+</sup> , %	6,9±1,2	14,3±2,2***	6,5±2,0**	7,1±3,2***
CD8 <sup>+</sup> CD94 <sup>+</sup> , % от CD94 <sup>+</sup> -клеток	3,4±1,0	11,8±1,0*	3,4±1,4**	15,5±1,8***
CD95 <sup>+</sup> , %	42,7±18,8	174,7±8,3*	147,7±10,1**	134,1±6,8*
CD102 <sup>+</sup> , %	9,2±1,1	16,2±1,0*	9,1±2,0**	8,8±1,6***
CD105 <sup>+</sup> , %	1,1±0,4	12,3±0,6***	1,6±0,4**	12,9±1,2*
CD116 <sup>+</sup> , %	1,3±0,8	11,0±0,1**	1,2±0,4**	1,4±0,6**
CD151 <sup>+</sup> , %	2,1±0,4	14,1±1,1*	2,0±0,4**	16,9±1,2*
CD158 <sup>+</sup> , %	8,9±2,1	15,7±1,6***	8,4±2,1**	9,1±1,6**
CD8 <sup>+</sup> CD158 <sup>+</sup> , % от CD158 <sup>+</sup> -клеток	3,4±1,0	11,9±1,1*	3,4±1,1**	15,6±1,6***
CD161 <sup>+</sup> , %	4,4±1,3	12,3±1,0***	13,8±1,2***	4,3±2,0**
CD-HLA-DR <sup>+</sup> , %	6,8±1,2	14,8±2,2***	6,6±2,0**	7,0±3,2**
CD3 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> , %	10,4±5,1	9,3±2,3***	9,9±3,2***	114,0±3,1***
Формулы индексов:				
ИРИ (CD4/CD8)	1,5±0,4	11,1±0,3***	1,6±0,2**	11,9±0,3***
активации:				
В-клеток CD20/CD38	0,9±0,7	1,0±0,3**	1,0±0,5**	11,5±0,5*
Т-клеток CD69/CD3	0,9±0,1	10,5±0,2***	0,8±0,4**	11,7±0,7*
апоптоза:				
CD95/CD3 (Т-клеток)	1,6±0,4	12,7±0,5*	11,9±0,4**	1,8±0,6**
CD27/CD20	0,82±0,22	10,74±0,28**	0,80±0,16**	0,76±0,19**
CD27/CD19	0,68±0,18	10,70±0,19**	0,64±0,11**	10,84±0,10**
CD27/CD70	0,80±0,31	11,49±0,28*	0,76±0,16*	11,52±0,19*

Примечание. Различия между показателями больных и здоровых доноров статистически достоверны (\* – p<0,001; \*\* – p<0,05; \*\*\* – p<0,01).

ции, вспомогательные молекулы для межклеточной адгезии и кооперации, а также иммунные клетки памяти и наивные клетки-иммуноциты);

(д) снижение уровня проапоптотической активности общих Т-лимфоцитов за счет уменьшения клеток с фенотипом CD95<sup>+</sup>. При этом одновременно возрастает интенсивность апоптоза, протекающего по особому сигнальному пути с участием клеток CD27<sup>+</sup>CD70<sup>+</sup>, что ведет к истощению специфичных в отношении опухоли противоопухолевых В- и Т-лимфоцитов. Доля клеток с фенотипом CD70<sup>+</sup> при ВИДОАС заметно выше, чем у больных с СОАВИД,

что свидетельствует об активации сигнального CD27<sup>+</sup>CD70<sup>+</sup> пути.

Именно ВИДОАС является иммунологической формой ГБ, в составе которой преобладают варианты течения опухоли с более агрессивными и инвазивными свойствами - ИМК ГБ.

## Обсуждение

В случае СОАВИД одним из важнейших иммунологических критериев развития и прогрессирования процесса является обеднение периферической

Табл. 5. ОСОБЕННОСТИ СУБПОПУЛЯЦИОННОЙ АРХИТЕКТониКИ у БОЛЬНЫХ с РАЗЛИЧНЫМИ КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИМИ ФОРМАМИ и ВАРИАНТАМИ ТЕЧЕНИЯ ГЛИОБlastОМЫ

Функционально-значимые клеточные кластеры	Здоровые доноры (ЗД)	Пациенты с:		
		СОАВИД		ВИДОАС (9%)
		I (61%)	II (30%)	
1. Кластер клеток с цитотоксическими свойствами:				
CD16 <sup>+</sup>	N	↓	↓	↓
CD56 <sup>+</sup>	N	↓	N	N
CD57 <sup>+</sup>	N	↓	N	N
CD8 <sup>+</sup> CD57 <sup>+</sup>	N	↓	↓	↓
CD8 <sup>+</sup>	N	↑	N	N
CD8 <sup>+</sup> CD28 <sup>-</sup>	N	↓	N	N
CD4 <sup>+</sup> CD7 <sup>-</sup>	N	↓	N	↑
CD4 <sup>+</sup> CD7 <sup>-</sup> CD28 <sup>-</sup>	N	↓	N	↑
CD64 <sup>+</sup>	N	N	N	N
CD94 <sup>+</sup>	N	↓	N	N
CD8 <sup>+</sup> CD94 <sup>+</sup> , % от CD94 <sup>+</sup> -клеток	N	↓	N	↑
CD158 <sup>+</sup>	N	↓	N	N
CD8 <sup>+</sup> CD158 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD161 <sup>+</sup>	N	↓	↓	N
2. Кластер клеток моноцитарно-макрофагального ряда:				
CD14 <sup>+</sup>	N	↓	N	N
CD14 <sup>+</sup> CD163 <sup>+</sup>	N	↓	N	N
CD14 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup>	N	↓	N	N
CD14 <sup>+</sup> CD86 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD23 <sup>+</sup>	N	N	N	↑
CD68 <sup>+</sup>	N	↓	N	↓
CD71 <sup>+</sup>	N	↓	N	N
CD116 <sup>+</sup>	N	↓	N	N
CD4 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD4 <sup>+</sup> CD7 <sup>-</sup> , %	N	↓	N	↑
CD4 <sup>+</sup> CD7 <sup>-</sup> CD28 <sup>-</sup> , %	N	↓	N	↑
3. Кластер В-клеток:				
CD5 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD5 <sup>+</sup> CD72 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD5 <sup>+</sup> CD27 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD7 <sup>+</sup>	N	↓	N	N
CD19 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD20 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD19 <sup>+</sup> CD20 <sup>+</sup> CD86 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD19 <sup>+</sup> CD20 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD21 <sup>+</sup>	N	↓	N	N
CD22 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD23 <sup>+</sup>	N	N	N	↑
CD27 <sup>+</sup>	N	↓	N	N
CD71 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑

крови субпопуляциями ДК. Данный факт отражает одну из причин формирования диспропорций в составе иммунорегуляторных субпопуляций, ибо обеднение периферической крови столь пластичными в функциональном отношении субпопуляциями

ДК [25] влечет за собой резкое истощение ресурсов противоопухолевого иммунитета уже на самых ранних (в первые 2-4 месяца после установления диагноза) стадиях развития ГБ, т.е. в период, когда механизмы наследственного иммунитета заметно ос-

Табл. 6. ОСОБЕННОСТИ СУБПОПУЛЯЦИОННОЙ АРХИТЕКТониКИ У БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНЫМИ КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИМИ ФОРМАМИ И ВАРИАНТАМИ ТЕЧЕНИЯ ГЛИОБЛАСТОМ

Функционально-значимые клеточные кластеры	Здоровые доноры (ЗД)	Пациенты с:		
		СОАВИД		ВИДОАС (9%)
		I (61%)	II (30%)	
4. Кластер клеток с регуляторными свойствами (в том числе, клеток, экспрессирующих маркеры активации, костимуляторные и адгезионные молекулы и др.):				
CD2 <sup>+</sup>	N	↓	N	N
CD2 <sup>+</sup> CD150 <sup>+</sup>	N	↓	N	↓
CD3 <sup>+</sup>	N	↓	N	↓
CD3 <sup>+</sup> CD2 <sup>-</sup>	N	↓	N	↓
CD4 <sup>+</sup>	N	↓	N	↓
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> , % от CD4 <sup>+</sup> Т-клеток	N	↓	N	↓
CD4 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> , % от CD4 <sup>+</sup> Т-клеток	N	N	N	N
CD4 <sup>+</sup> CD45RO <sup>+</sup> , % (memory)	N	↓	N	N
CD4 <sup>+</sup> 45RA <sup>+</sup> , % (naïve)	N	N	N	N
CD8 <sup>+</sup>	N	↑	N	N
CD8 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> , % от CD8 <sup>+</sup> Т-клеток	N	↑	N	N
CD8 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> , % от CD8 <sup>+</sup> Т-клеток	N	↑	N	N
CD11 <sup>+</sup>				
CD11b <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD11c <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD15 <sup>+</sup>	N	↑	N	↑
CD18 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD23 <sup>+</sup>	N	N	N	↑
CD24 <sup>+</sup>	N	↑	N	↑
CD25 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD28 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD30 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD38 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD44 <sup>+</sup>	N	↑	N	↑
CD45 <sup>+</sup>	N	↓	N	N
CD45RO <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD45RA <sup>+</sup>	N	N	N	↑
CD54 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD58 <sup>+</sup>	N	↓	N	N
CD62L <sup>+</sup>	N	↓	N	N
CD69 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD70 <sup>+</sup>	N	N	N	↑
HLA-DR <sup>+</sup>	N	↓	N	N
CD3 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup>	N	N	N	↑
CD80 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD86 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD102 <sup>+</sup>	N	↓	N	N
CD105 <sup>+</sup>	N	↑	N	↑
CD151 <sup>+</sup>	N	↑	N	↑
5. Кластер дендритных клеток:				
CD1 <sup>+</sup>	-	-	-	-
CD1b <sup>+</sup>	N	N	N	↑
CD1c <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD1d <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD21 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD27 <sup>+</sup>	N	↓	N	N
CD71 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD80 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
CD86 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑

лаблены, что мы и наблюдаем у больных с СОАВИД.

ДК (вместе с костимуляторными молекулами) участвуют в презентации опухолевоассоциированных антигенов (ОАА) Т-лимфоцитам, обеспечивая активацию последних и формирование у них цитотоксических свойств, рестриктированных по фенотипу CD1 (CD1<sup>+</sup>-НКТ-клетки). Вполне допустимо, что недостаточность функции ДК (клеток микроглии) и входящих в их состав антиген-презентирующих клеток (АПК), обуславливает нарушение процессов презентации ОАА клеткам иммунной системы, а, в конечном итоге, формирование низкой иммуногенности большинства форм ГБ, столь значимой для формирования СОАВИД [17].

Две важнейших субпопуляции ДК, экспрессирующих маркеры CD80/CD86 с костимуляторными и иммунорегуляторными функциями, заметно уменьшены в крови больных с СОАВИД, снижая возможности для активации Т-иммунитета. Вместе с тем, указанные маркеры активно экспрессируются на клетках самой опухоли, определяя взаимодействие клеток ГБ с Т-лимфоцитами и формируя, тем самым, новый механизм ускользания ГБ от иммунного надзора [45].

При канцерогенезе отмечено снижение содержания большинства ДК, что отражает формирование у таких больных феномена опухолевой резистентности [46].

Крайне важным для понимания роли субпопуляционного дисбаланса в формировании опухолевой резистентности при ГБ играет сигнальный тандем CD27/CD70, компоненты которого при взаимодействии между собой индуцируют апоптоз иммунных клеток, определяя еще один, дополнительный путь ускользания ГБ от иммунного надзора [43, 46].

Вторым свидетельством иммуносупрессии при СОАВИД является обеднение периферического кровотока субпопуляциями цитотоксических клеток, в первую очередь, НК-клетками. Особого вни-

мания заслуживает заметный рост CD8<sup>+</sup>CD57<sup>+</sup>-клеток, способных подавлять активность НК-клеток, что проявляет выраженную ассоциативность с супрессией у таких пациентов механизмов цитотоксичности в целом. Эти клетки, осуществляющие первую линию противоопухолевой защиты, являются надежным индикатором состояния иммунной функции у онкобольных, а динамика их отдельных субпопуляций может быть принята в качестве одного из иммунологических критериев развития ГБ [4]. При ГБ спектр клеток-киллеров весьма широк, причем в составе такого рода субпопуляций представлены как зависимые от костимуляторных сигналов (CD2<sup>+</sup>, CD18<sup>+</sup>, CD54<sup>+</sup>, CD58<sup>+</sup>, CD102<sup>+</sup>) клетки-киллеры, так и эффекторные LAK-клетки, не требующие для своей активации такого рода стимулов.

Весомая роль в противоопухолевом надзоре принадлежит макрофагам, цитотоксический потенциал которых достаточно высокий. Вместе с тем, макрофаг, распознавший опухолевую клетку, может активировать и НК-клетки, усиливая цитотоксический ресурс иммунной системы пациента с ГБ [13].

Опухолевая ткань может распознаваться и уничтожаться еще одной субпопуляцией Т-лимфоцитов - цитотоксическими CD8<sup>+</sup>-клетками, которые, проникая через гематоэнцефалический барьер, вступают в контакт с опухолью. Тем не менее, прогноз ГБ даже в случае их лимфоидной инфильтрации остается крайне неблагоприятным, что свидетельствует о низкой эффективности взаимодействия клеток иммунной системы с клетками опухоли. Процесс Т-зависимого киллинга приобретает значимость лишь на стадиях интенсивного опухолевого роста, когда совокупный цитотоксический потенциал оказывается явно недостаточным для контроля опухолевой прогрессии, и такого рода киллинг вносит существенный вклад в противоопухолевый иммунитет. К сожалению, такой механизм эффективен лишь в отношении высокоиммуногенных опухолей, к кото-

Табл. 7. ОСОБЕННОСТИ СУБПОПУЛЯЦИОННОЙ АРХИТЕКТониКИ у БОЛЬНЫХ с РАЗЛИЧНЫМИ КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИМИ ФОРМАМИ и ВАРИАНТАМИ ТЕЧЕНИЯ ГЛИОБЛАСТОМ

Функционально-значимые клеточные кластеры	Здоровые доноры (ЗД)	Пациенты с:		
		СОАВИД		ВИДОАС (9%)
		I (61%)	II (30%)	
6. Кластер клеток, экспрессирующих маркеры апоптоза:				
CD95 <sup>+</sup>	N	↑	↑	↓
CD27 <sup>+</sup>	N	↓	N	↑
Формулы индексов:				
ИРИ (CD4/CD8)	N	↓	N	↑
активации:				
В-клеток CD20/CD38	N	N	N	↑
Т-клеток CD69/CD3	N	↓	N	↑
апоптоза:				
CD95/CD3 (Т-клеток)	N	↑	↑	N
CD27/CD20	N	↓	N	N
CD27/CD19	N	↓	N	↑
CD70/CD27	N	↑	N	↑

рым ГБ не относятся. Объединяющей для всех трех вышеуказанных механизмов противоопухолевой цитотоксичности системой контроля являются ДК, обладающие способностью выполнять функцию АПК в границах особой популяции – клеток микроглии [17].

Уменьшение содержания в крови больных с ГБ клеток моноцитарно-макрофагальной линии дифференцировки происходит под влиянием факторов опухолевой природы [18, 49]. В результате, на моноцитах снижается экспрессия HLA-DR и CD80/86 костимуляторных молекул, что мы и наблюдаем у больных с СОАВИД. Часть макрофагов формируется на значительно более поздних стадиях опухолевой прогрессии, что также является препятствием для активации цитотоксических механизмов иммунитета [36]. Одним из путей истощения пула активных Т-клеток является нарушение их кооперативных взаимодействий с микроокружением, в первую очередь, с клетками моноцитарно-макрофагального ростка, обусловленное недостаточностью экспрессии HLA-молекул [48]. Столь выраженные изменения в моноцитарно-макрофагальном звене неизбежно приводят к снижению функции Т-лимфоцитов и ослаблению эффекторных реакций клеточного иммунитета [19]. Патогенетическая и клиническая значимость показателей субпопуляционного спектра, иллюстрирующих состояние кластеров ДК и клеток с цитотоксическими

функциями, не вызывает сомнений, что продемонстрировано у больных с СОАВИД. А экспрессия на поверхности ГБ клеток маркеров макрофагально-моноцитарного ростка (например, CD14) требует дальнейшего анализа трехкомпонентной модели взаимодействия между клетками ГБ с одной стороны и макрофагами, НК-клетками и ДК, с другой [13].

Характерным для больных с СОАВИД является также сокращение размеров субпопуляций общих CD3-лимфоцитов; регуляторных лимфоцитов с фенотипами  $CD4^+$  (клетки-хелперы) и  $CD4^+CD25^+$  (экспрессирующих рецептор к IL-2), сопряженное с тенденцией к росту  $CD8^+$  (клетки-супрессоры),  $CD3^+HLA-DR^+$ -клеток (содержащих HLA-DR маркер поздней активации Т-лимфоцитов), клеток с фенотипами  $CD4^+HLA-DR^+$ ,  $CD4^+CD28^-$  (лишенных костимуляторной молекулы CD28) и  $CD4^+CD45RO^+$  (относящимся к Т клеткам-памяти), а также заметным снижением ИРИ. Дефицит  $CD4^+$ -клеток в опухолевом очаге и, соответственно, в периферическом кровотоке (табл. 3-7) является одной из главных причин неэффективности противоопухолевого надзора за прогрессией ГБ. Сюда же следует отнести низкие показатели содержания клеток с активационными маркерами CD5 и CD7, осуществляющих контроль ранних стадий активации лимфоцитов и секреции соответствующих цитокинов с противоопухолевой активностью [15].

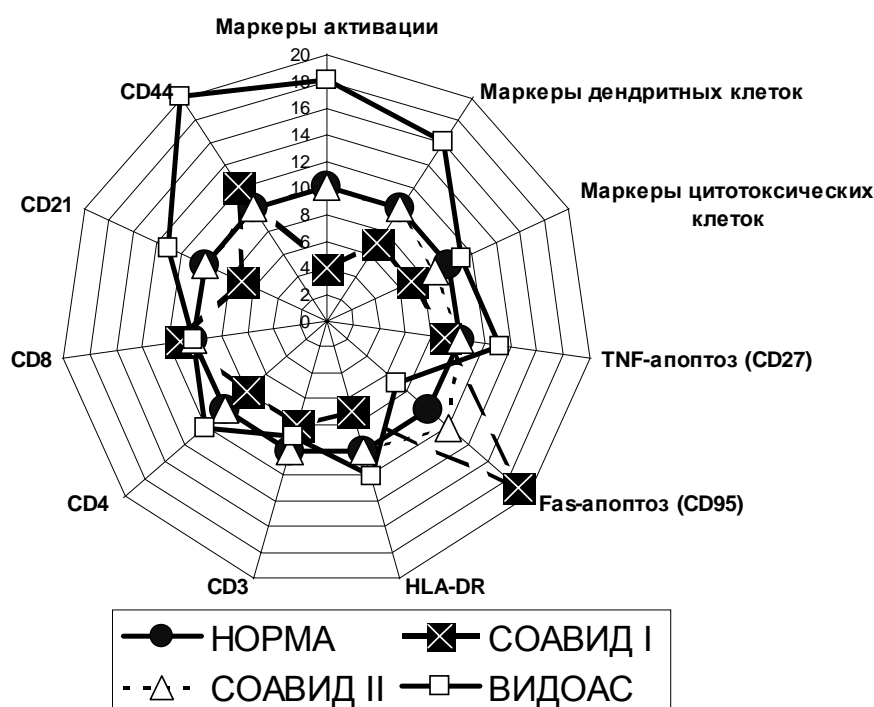


Рис1. Анализ степеней ассоциативности между субпопуляционными кластерами и клинико-иммунологическими формами глиобластом

У больных с СОАВИД следует обратить внимание на группу субпопуляций, участвующих в реализации адгезионных и миграционных свойств клеток. Содержание их, испытывая колебания в широком диапазоне значений, имеет все же тенденцию к снижению. К таким субпопуляциям следует отнести клетки с фенотипами  $CD2^+$ ,  $CD18^+$ ,  $CD54^+$ ,  $CD62L^+$  и  $CD150^+$ , а также клетки с фенотипом  $CD11b^+/CD11c^+$ , без которых невозможна активация цитотоксических механизмов, синтез В-клетками противоопухолевых антител и хоуминг лимфоцитов в участки опухолевой ткани [11]. Кстати, в составе околоопухолевого инфильтрата отмечается также резкое увеличение доли клеток с фенотипом  $CD4^+CD45R0^+$  (клетки памяти) [28], ассоциируемое с низкими показателями содержания указанной субпопуляции в крови (табл. 3-7).

Интерес с точки зрения нейроонколога представляет также факт возрастания у больных СОАВИД и, особенно, ВИДОАС доли  $CD44^+$ -клеток, несущих адгезионные молекулы и участвующих в процессах ангиогенеза и хоуминга иммунцитов [32]. Данная субпопуляция принимает участие в стабилизации микроглиального окружения, что способствует формированию определенного патоморфологического гистотипа и степени агрессивности ГБ. Маркер  $CD44$  также экспрессируется на поверхности ГБ клеток, тогда как Т-лимфоциты околоопухолевого инфильтрата его лишены [20]. Для больных с ГБ отмечена явная корреляция степени инвазивности и агрессивности первичной ГБ с содержанием данной субпопуляции в очаге и кровотоке [47].

Известно, что опухолевый очаг сильно инфильтрирован нейтрофилами, а причины высокой концентрации нейтрофилов в ткани ГБ связывают с интенсивной секрецией клетками опухоли цитокинов, провоцирующих миграцию  $CD15^+$ -нейтрофилов в опухолевый очаг, где возможны вторичные воспалительные реакции [15]. Существенный интерес вызывают также субпопуляции  $CD24^+$ - и  $CD151^+$ -клеток, численность которых при СОАВИД также возрастает. Вышеуказанные субпопуляции вносят заметный вклад в усиление подвижности клеток ГБ и формирование ее выраженных агрессивных и инвазивных свойств [34].

В качестве одного из механизмов развития Т-клеточных дисфункций у больных с ГБ рассматривается повышенная готовность лимфоидных клеток к индукции апоптоза. Снижение  $CD4^+$ - и  $CD8^+$ -клеток может косвенно свидетельствовать об усилении проапоптотической активности Т-лимфоцитов при ГБ, тем более, что у больных с СОАВИД содержание в крови  $CD95^+$ -лимфоцитов заметно превышало аналогичные показатели в контрольной группе. Интенсивность апоптоза Т-клеток зависит от уровня экспрессии на их поверхности молекул Fas-рецептора ( $CD95$ ), а для периферической крови боль-

шинства больных с ГБ отмечены высокие цифры содержания в крови  $CD95^+$ -клеток, экспрессирующих рецептор для Fas-лиганда [43, 46]. У больных с фенотипом СОАВИД II содержание в крови  $CD95^+$ -лимфоцитов в среднем на 15-20% выше нормы, тогда как для фенотипа I превышение таких показателей достигало 75%. При этом рост индексов апоптоза у больных с фенотипом I заметно выше, нежели у больных с фенотипом II, что отражает сочетание высокого уровня проапоптотической активности Т-лимфоцитов у больных с фенотипом I с обеднением кровотока клетками-предшественниками иммуногенеза (например, коммитированными  $CD3^+$ -клетками).

Процессы, реализуемые через  $CD95/CD95L$  и  $\alpha$ -TNF- $\alpha/TNF-\alpha$ , свидетельствуют о двух независимых путях апоптоза, приводящих к прогрессирующему обеднению основного пула зрелых Т- и В-лимфоцитов, что и наблюдается у больных с СОАВИД, в первую очередь, с фенотипом I. Ослаблению противоопухолевого иммунитета способствует и резкое снижение уровня ЕЦТ, установленное для этой группы нами ранее [5], что диктует необходимость перевода таких больных в группу особого риска и поиска средств и методов, обеспечивающих торможение проапоптотической активности иммунокомпетентных клеток. Анализ коррелятивных взаимосвязей показателей апоптоза, других параметров противоопухолевого иммунитета и клинко-патоморфологических особенностей конкретной формы ГБ станут предметом дальнейших исследований. Тем более что в индукции апоптоза иммунцитов, помимо традиционной пары FasR-FasL, активное участие принимает тандем  $CD70/CD27$ , дающий две альтернативные возможности – для клеток ГБ ускользнуть от иммунного надзора, а для иммунцитов, наоборот, провоцировать усиление апоптоза [46].

Резкое возрастание проапоптотической активности иммунцитов, опосредуемой через рецепторы апоптоза -  $CD95$  (Fas-рецептор) и  $CD27$  (рецептор TNF- $\alpha$ ) следует считать характерными для СОАВИД диспропорциями. Рост такой активности в первом случае связан с увеличением численности клеток с фенотипом  $CD95^+$  и сокращением размеров субпопуляции  $CD3^+$ -лимфоцитов, во втором, наоборот, - с падением числа клеток, несущих фенотип  $CD27^+$ , и нормальным содержанием  $CD70^+$ -клеток, экспрессирующих опухолевый фенотип. Следует заметить, что второй сигнальный путь, требующий наличия на клетках ГБ маркера  $CD70$  (поверхностного лиганда для TNF- $\alpha$ ), более специфичен для оценки состояния В-звена противоопухолевого иммунитета, чем традиционный Fas-механизм. При этом, у больных с СОАВИД определяющую роль в прогрессировании опухоли играет Fas-опосредованный апоптоз, обуславливающий гибель ос-

новых субпопуляций Т-лимфоцитов, ответственных за формирование противоопухолевого иммунитета. Таким образом, в развитии и прогрессировании СОАВИД, представляющего собой достаточно гетерогенную группу больных ГБ, весомую роль играют не только эффекторные, но и иммунорегуляторные сдвиги в составе субпопуляций, способные влиять на динамику противоопухолевой цитотоксичности и эволюцию заболевания в целом. Такие сдвиги формируются еще в доклинических стадиях заболевания одновременно с характерными для опухоли геномными перестройками, о чем свидетельствуют факты сокращения субпопуляций, экспрессирующих маркеры ранней активации – CD25, CD38 и CD69 [8, 15].

В отличие от СОАВИД, среди больных с ВИДОАС отсутствуют ГЦ ГБ, а большинство пациентов принадлежат к наиболее тяжелым в клиническом и прогностическом плане ИМК ГБ [2]. Аутоиммунные нарушения – не редкое явление для прогрессирования новообразований, причем формирование ВИДОАС, опосредуемое через системы контроля за пролиферативной и апоптотической активностью участвующих в онкогенезе клеток, часто ассоциируется с ухудшением клинической картины заболевания и развитием вторичной симптоматики в виде усиления агрессивных свойств опухоли в сочетании с обострением воспаления в зоне опухолевого очага [42]. Основой для возникновения аутоиммунных нарушений являются этиологические причины генетического, гормонального и экологического характера, определяющие единый механизм развития ВИДОАС, а возникновение такого синдрома в эволюции опухоли составляет лишь одно из последствий эволюционного развития системы противоопухолевого иммунитета [40].

Прогрессированию ГБ у больных с ВИДОАС способствует воспалительная реакция в составе микроглии, часто сопровождающаяся интенсивной экспрессией клетками опухоли пролиферативных и репликативных маркеров онкогенеза, пролиферации и воспаления [41]. Это подтверждает появление в крови больных с ВИДОАС большого числа клеток, экспрессирующих как маркеры активации, так и опухолевоассоциированные маркеры в сочетании с клетками лимфоцитарно-моноцитарного ряда, осуществляющих регуляторные и вспомогательные функции. Особо следует упомянуть о роли клеток, участвующих в создании опухолевого микроокружения и обеспечивающих формирование ангиогенного и инвазивного потенциала ГБ, т.е. клеток, экспрессирующих молекулы адгезии и межклеточной кооперации. Весомый вклад в механизм прогрессии ГБ может вносить и субпопуляция с фенотипом CD45R0<sup>+</sup>, выполняющая функцию Т-клеток

памяти и одновременно индукторов Т-хелперов. CD45R0<sup>+</sup>-лимфоциты способны прилипать к структурным компонентам микроглии в очаге формирования ГБ, выполняя функцию подложки для усиления агрессивных свойств опухолевой ткани.

Интересной с точки зрения иммунофармакологии представляется субпопуляция, экспрессирующая маркер CD30<sup>+</sup> и имеющая две противоположные тенденции в динамике при СОАВИД и ВИДОАС – в первом случае численность этих клеток резко снижается, коррелируя с другими субпопуляционными параметрами ВИД; во втором – доля этих клеток, наоборот, заметно возрастает, обнаруживая прямую корреляцию с целым рядом показателей, иллюстрирующих активацию ДК и Т-звена иммунитета. Принадлежащая к обширному семейству рецепторов TNF и обладая выраженным плейотропическим эффектом в отношении Т-клеток, молекула CD30 участвует в дифференцировке Th1/Th2 лимфоцитов, обладая регуляторным влиянием на Т-звено иммунитета [33].

Прогрессирование ГБ зависит от формы опухолевоассоциированной иммунопатологии, в том числе, от субпопуляционной архитектоники периферической крови, определяющей, в значительной степени, клеточный состав опухолевого очага и, как следствие, клиническую картину заболевания, в том числе, степень агрессивных свойств и интенсивность прогрессирования ГБ. Содержание в кровотоке отдельных субпопуляций и их комбинации в составе определенных клеточных кластеров обнаруживают коррелятивную зависимость с патоморфологическим типом ГБ и, соответственно, степенью злокачественности, причем высокое или низкое содержание субпопуляций отнюдь не означает ассоциативности с размерами самой опухоли.

Для ГБ нами установлены два основных иммунологических фенотипа – СОАВИД и ВИДОАС, имеющие в своей основе различную субпопуляционную архитектуру и отличающиеся как патогенетически, так и клинически, имея при этом в обоих случаях признаки ВИД. Для каждого из вышеуказанных фенотипов нами установлены наборы соответствующих субпопуляций (кластерные группы) в периферической крови, которые после дополнительных исследований могут быть рекомендованы в качестве критериальных признаков развития и прогрессирования ГБ (рис. 1).

Дальнейшее исследование субпопуляционного спектра как периферической крови, так и состава опухолевого очага в ткани мозга представляет значительный интерес с позиций разработок новых, иммуногенотерапевтических методов лечения и протоколов иммунореабилитации больных с ГБ в послеоперационном периоде.

## Список литературы

1. Барышников А.Ю. Моноклональные антитела серии ИКО к дифференцировочным антигенам лимфоцитов человека // Гематол. трансфузиол. – 1990. – № 8. – С. 4.
2. Голанов А.В. Глиобластомы больших полушарий головного мозга: результаты комбинированного лечения и факторы, влияющие на апоптоз // Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 1999.
3. Коршунов А.Г., Сычева Р.В., Голанов А.В. Иммуногистохимическое изучения апоптоза в глиобластомах больших полушарий головного мозга // Архив патологии. – 1998. – N.60. – С.23-27.
4. Хонина Н.Л., Центнер М.И., Леплина О.Ю., Тихонова М.А., Ступак В.В., Никонов С.Д., Черных Е.Р., Останин А.А. Характеристика и механизмы иммунных нарушений у больных со злокачественными опухолями головного мозга // Вопросы онкологии. – 2002. – Т. 48. – №2. – С.196-201.
5. Чумаков В.А., Качков И.А., Благовещенский С.В., Пронина О.А., Зубова Ю.Е., Гнучев Н.В., Кузнецов В.П., Сучков С.В. Типичный и атипичный варианты иммунологического ответа у больных с глиобластомой // Журнал "Цитокины и воспаление" – М. – 2002. – Т.1 – № 2. – С. 83.
6. Чумаков В.А., Биктимиров Р.Г., Качков И.А., Пронина О.А., Гнучев Н.В., Кузнецов В.П., Голанов А.В., Сучков С.В. Серологические особенности у больных с глиобластомой // Материалы III-го съезда нейрохирургов России. С.-П., 2002, 4-8 июня, С. 172-173.
7. Barber D.F., Burshtyn D.N., Faure M., Peterson M., Rajagopalan S., Renard V., Sandusky M., Stebbins C.C., Wagtmann N., Watzl C. Inhibition of natural killer cell activation signals by killer cell immunoglobulin-like receptors (CD158) // Immunol Rev. – 2001. – Vol.181. – P.223-233.
8. Bofill M., Borthwick N.J. CD38 in health and disease // Chem Immunol. – 2000. – Vol.75. – P.218-234.
9. Bohbot A., Feugeas O., Cuillerot J.M., Grosse A., Rusciani I., Faradji A., Oberling F. Peripheral blood CD34+ cells: method of purification and ex vivo expansion // Nouv Rev Fr Hematol. – 1995. – Vol.37. – P.359-365.
10. Boyum A., Lovhaug D., Tresland L., Nordlie E.M. Separation of leucocytes: improved cell purity by fine adjustments of gradient medium density and osmolality // Scand J Immunol. – 1991. – Vol.34. – P.697-712.
11. Cabanas C., Sanchez-Madrid F. CD18 (leukocyte integrin beta2 subunit) // J Biol Regul Homeost Agents. – 1999. – Vol.13. – P.137-139.
12. Cooper M.A., Fehniger T.A., Turner S.C., Chen K.S., Ghaehri B.A., Ghayur T., Carson W.E., Caligiuri M.A. Human natural killer cells: a unique innate immunoregulatory role for the CD56(bright) subset // Blood. – 2001. – Vol.97. – P.3146-3151.
13. Deininger M.H., Meyermann R., Schluesener H.J. Expression and release of CD14 in astrocytic brain tumors // Neuropathol (Berl). – 2003. – Vol.106. – P.271-277.
14. Deterre P., Berthelie V., Bauvois B., Dalloul A., Schuber F., Lund F. CD38 in T- and B-cell functions // Chem Immunol. – 2000. – Vol.75. – P.146-168.
15. Dix A.R., Brooks W.H., Roszman T.L., Morford L.A. Immune defects observed in patients with primary malignant brain tumors // J Neuroimmunol. – 1999. – Vol.100. – P.216-232.
16. Dustin M.L., Bivona T.G., Philips M.R. Membranes as messengers in T cell adhesion signaling // Nat Immunol. – 2004. – Vol.5. – P.363-372.
17. Federoff S., Hao C. Origin of microglia and their regulation by astroglia // Adv Exp Med Biol. – 1991. – Vol.296. – P.135-142.
18. Fontana A., Kristensen F., Dubs R., Gamsa D., Weber E. Production of prostaglandin E and an interleukin-1 like factor by cultured astrocytes and C6 glioma cells // J Immunol. – 1982. – Vol.129. – P.2413-2419.
19. Fries G., Perneczky A., Kempinski O. Glioblastoma-associated circulating monocytes and the release of epidermal growth factor // J. Neurosurg. – 1996. – Vol. 85. – P. 642-647.
20. Hagel C., Park S.H., Puchner M.J., Stavrou D. CD44 expression and tumour cell density correlate with response to tamoxifen/carboplatin chemotherapy in glioblastomas // J Neurooncol. – 2004. – Vol.66. – 2. – P.139-146.
21. Herremann G., Godeau P., Cabane J., Acar J.F., Digeon M., Bach J.F. Circulating immune complexes and infections endocarditis. 64 cases // Ann Med Interne (Paris). – 1978. – Vol.129. – P.387-397.
22. Hunter C.A., Lieberman L.A., Mason N., Pepper M., Sague S.L., Tato C., Zediak V. Costimulation in resistance to infection and development of immune pathology: lessons from toxoplasma // Immunol Res. – 2003. – Vol.27. – P.331-340.
23. Kanda T., Yokoyama T., Ohshima S., Yuasa K., Watanabe T., Suzuki T., Murata K. T-lymphocyte subsets as noninvasive markers of cardiomyopathy // Clin Cardiol. – 1990. – Vol.13. – P.617-622.
24. Kleihues P., Cavenee W.K. eds. Pathology & genetics of tumors of the nervous system. World Health Organisation classification of tumours. Lyon, France: IARC Press, 2000.
25. Liu Y.J., Kanzler H., Soumelis V., Gilliet M. Dendritic cell lineage, plasticity and cross-regulation // Nat Immunol. – 2001. – Vol.2. – P.585-589.
26. Lowe J., MacLennan K.A., Powe D.G., Pound J.D., Palmer J.B. Microglial cells in human brain have phenotypic characteristics related to possible function as dendritic antigen presenting cells // J Pathol. – 1989. – Vol.159. – P.143-149.
27. Makriganis A.P., Anderson S.K. Regulation of natural killer cell function // Cancer Biol Ther. – 2003. – Vol.2. – P.610-616.

28. Menage P., Thibault G., Lebranchu Y., Jan M., Bardos P. Deficiency of CD4+CD45RA+ lymphocytes in patients with glioblastoma multiforme // *Eur J Med.*- 1992.-Vol.1.-P.362-364.
29. Metelitsa L.S. Flow cytometry for natural killer T cells: multi-parameter methods for multifunctional cells // *Clin Immunol.*- 2004.-Vol.110.-P.267-276.
30. Naot D., Sionov R.V., Ish-Shalom D. CD44: structure, function, and association with the malignant process // *Adv Cancer Res.*- 1997.- Vol.71.-P.241-319.
31. Nicholson I.C. CD62L (L-selectin) // *J. Biol. Regul Homeost Agents.*-2002.-Vol.16.-P.144-146.
32. Resnick D.K., Resnick N.M., Welch W.C., Cooper D.L. Differential expressions of CD44 variants in tumors affecting the central nervous system // *Mol Diagn* -1999.-Vol.4.-P.219-232.
33. Romagnani S. Biology of human TH1 and TH2 cells // *J Clin Immunol.*- 1995.-Vol.15.-P.121-129.
34. Senner V., Sturm A., Baur I., Schrell U.H., Distel L., Paulus W. CD24 promotes invasion of glioma cells in vivo // *J Neuropathol Exp Neurol.*- 1999.-Vol.58.-P.795-802.
35. Sivori S., Parolini S., Marcenaro E., Castriconi R., Pende D., Millo R., Moretta A. Involvement of natural cytotoxicity receptors in human natural killer cell-mediated lysis of neuroblastoma and glioblastoma cell lines // *J Neuroimmunol.*- 2000.-Vol.107.-P.220-225.
36. Tada M., Karita M., Yanai H., Okita K. Application and limitation of endoscopic polypectomy in stomach polyps // *Nippon Naika Gakkai Zasshi.*- 1992.-Vol.81.-P.666-672.
37. Takamoto T., Hori Y., Yokoyama M.M., Koga Y., Toshima H. Lymphocyte subsets in patients with dilated cardiomyopathy and perimyocarditis // *J Clin Lab Immunol.*- 1986.-Vol.19.-P.113-116.
38. Tarazona R., DelaRosa O., Alonso C., Ostos B., Espejo J., Pena J., Solana R. Increased expression of NK cell markers on T lymphocytes in aging and chronic activation of the immune system reflects the accumulation of effector/senescent T cells // *Mech Ageing Dev.*- 2000.-Vol.121.-P.77-88.
39. Toba K., Koike T., Shibata A., Hashimoto S., Takahashi M., Masuko M., Azegami T., Takahashi H., Aizawa Y. Novel technique for the direct flow cytometric analysis of human basophils in unseparated blood and bone marrow, and the characterization of phenotype and peroxidase of human basophils // *Cytometry.*- 1999.-Vol.35.-P.249-259.
40. Turk M.J., Wolchok J.D., Guevara-Patino J.A., Goldberg S.M., Houghton A.N. Multiple pathways to tumor immunity and concomitant autoimmunity // *Immunol Rev.*- 2002.-Vol.188.-P.122-135.
41. Tysnes B.B., Mahesparan R. Biological mechanisms of glioma invasion and potential therapeutic targets // *J Neurooncol.*- 2001.-Vol.53.-P.129-147.
42. Ware C.F. APRIL and BAFF Connect Autoimmunity and Cancer // *J.Exp.Med.*- 2000.-Vol.192.-P.35-37.
43. Weller M., Kleihues P., Dichgans J., Ohgaki H. CD95 ligand: lethal weapon against malignant glioma? // *Brain Pathol.*- 1998.-Vol.8.-P.285-293.
44. Willmann K., Dunne J.F. A flow cytometric immune function assay for human peripheral blood dendritic cells // *J Leukoc Biol.*- 2000.-Vol.67.-P.536-544.
45. Wintterle S., Schreiner B., Mitsdoerffer M., Schneider D., Chen L., Meyermann R., Weller M., Wiendl H. Expression of the B7-related molecule B7-H1 by glioma cells: a potential mechanism of immune paralysis // *Cancer Res.*- 2003.-Vol.63.-P.7462-7467.
46. Wischhusen J., Jung G., Radovanovic I., Beier C., Steinbach J.P., Rimner A., Huang H., Schulz J.B., Ohgaki H., Aguzzi A., Rammensee H.G., Weller M. Identification of CD70-mediated apoptosis of immune effector cells as a novel immune escape pathway of human glioblastoma // *Cancer Res.*- 2002.-Vol.62.-P.2592-2599.
47. Yasuda M., Nakano K., Yasumoto K., Tanaka Y. CD44: functional relevance to inflammation and malignancy // *Histol Histopathol.*- 2002.-Vol.17.-P.945-950.
48. Yu S.Z., Zhang J.Q., Lu G.H. An immunohistochemical study of Ki-67 expression of brain tumor cells and mononuclear cell subsets infiltrating these tumors // *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi.*- 1994.-Vol. 23.-P.267-269.
49. Zou J.P., Morford L.A., Chougnet C., Dix A.R., Brooks A.G., Torres N., Shuman J.D., Coligan J.E., Brooks W.H., Roszman T.L., Shearer G.M. Human glioma-induced immunosuppression involves soluble factor(s) that alters monocyte cytokine profile and surface markers // *J. Immunol.*-1999.-Vol. 162.-P. 4882-4892.

поступила в редакцию 12.09.2005  
отправлена на доработку 27.10.2005  
принята к печати 16.11.2005