

ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО ОТВЕТА У БОЛЬНЫХ С РАЗНЫМИ ГИСТОЛОГИЧЕСКИМИ ТИПАМИ ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНОГО РАКА

Куртасова Л.М.¹, Шкапова Е.А.², Зуков Р.А.¹

¹ ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого»
Министерства здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия

² КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер имени А.И. Крыжановского»,
г. Красноярск, Россия

Резюме. Обследовано 93 больных с местно-распространенным почечно-клеточным раком в возрасте 45–55 лет в период до операции и через 14 дней после радикальной нефрэктомии. Изучены показатели клеточного и гуморального иммунитета, параметры спонтанной и стимулированной клеточной хемилюминесценции. Установлены изменения иммунофенотипического спектра лимфоцитов крови, показателей сывороточных иммуноглобулинов и параметров ХЛ-ответа нейтрофилов крови от гистологической структуры опухоли.

Ключевые слова: иммунитет, гистология, почечно-клеточный рак

Адрес для переписки:

Куртасова Людмила Михайловна
д.м.н., профессор кафедры клинической
иммунологии Красноярского государственного
медицинского университета имени проф.
В.Ф. Войно-Ясенецкого
660022, Россия, г. Красноярск, ул. Партизана
Железняк, 1.
Тел.: 8 (8391) 220-06-28.
Факс: 8 (8391) 221-16-38.
E-mail:office@aims.krsn.ru

Поступила 18.02.2013

Отправлена на доработку 04.03.2013

Принята к печати 15.03.2013

Авторы:

Куртасова Л.М. — д.м.н., профессор кафедры
клинической иммунологии Красноярского
государственного медицинского университета
имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск
Шкапова Е.А. — к.б.н., биолог иммунологической
лаборатории Красноярского краевого
клинического онкологического диспансера имени
А.И. Крыжановского, г. Красноярск
Зуков Р.А. — к.м.н., доцент кафедры
онкологии и лучевой терапии Красноярского
государственного медицинского университета
имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск

FEATURES OF IMMUNE RESPONSE IN PATIENTS WITH DIFFERENT HISTOLOGICAL TYPES OF RENAL CELL CARCINOMA

Kurtasova L.M.^a, Shkapova E.A.^b, Zukov R.A.^a

^a Krasnoyarsk State V.F. Voyno-Yasenetsky Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation

^b Krasnoyarsk A.I. Kryzhanivskiy Regional Clinical Oncological Center, Krasnoyarsk, Russian Federation

Abstract. We have examined ninety-three patients with locally advanced renal cell cancer at the age of 45 to 55 years. Immunological testing was performed before radical nephrectomy and 14 days after surgery. The cellular and humoral immune parameters and cell chemiluminescence were studied both at baseline and in stimulated cells. We found changes of immunophenotypic profile of blood lymphocytes, serum immunoglobulin indexes and chemiluminescence response of blood neutrophils, dependent on tumor histology. (*Med. Immunol.*, 2013, vol. 15, N 4, pp 375-382)

Keywords: immunity, histology, renal cell carcinoma

Address for correspondence:

Kurtasova Lyudmila M.
PhD, MD, Professor, Clinical Immunology
Department, Krasnoyarsk V.F. Voyno-Yasenetsky State
Medical University
660022, Russian Federation, Krasnoyarsk,
P. Zhelesniak str., 1.
Phone: 7 (391) 220-06-28.
Fax: 7 (391) 221-16-38.
E-mail:office@aims.krsn.ru

Received 18.02.2013
Revision received 04.03.2013
Accepted 15.03.2013

Authors:

Kurtasova L.M., PhD, MD (Medicine), Professor,
Clinical Immunology Department, Krasnoyarsk
V.F. Voyno-Yasenetsky State Medical University,
Krasnoyarsk
Shkapova E.A., PhD (Biology), Laboratory of
Immunology, Krasnoyarsk A.I. Kryzhanovsky Regional
Clinical Oncological Center, Krasnoyarsk
Zukov R.A., PhD (Medicine), Assistant Professor,
Oncology and Radiotherapy Department, Krasnoyarsk
V.F. Voyno-Yasenetsky State Medical University,
Krasnoyarsk

Введение

Одной из актуальных проблем современной онкоурологии является высокий уровень заболеваемости почечно-клеточным раком (ПКР). Почечно-клеточный рак составляет 90% всех опухолей почек и занимает третье место по темпам роста среди всех злокачественных новообразований [3].

Известно, что иммунная система играет центральную роль в механизмах противоопухолевой защиты организма. При этом основная функция в противоопухолевом ответе принадлежит клеточному иммунитету, опосредованному естественными киллерными клетками и специфическими цитотоксическими Т-лимфоцитами [1, 5]. В настоящее время доказана способность нейтрофилов к выраженному цитотоксическому действию на опухолевые клетки. При этом цитопатический эффект нейтрофилов осуществляется посредством продукции активных форм кислорода в результате «респираторного взрыва» [2, 4].

В соответствии с вышеизложенным, целью исследования явилось изучение иммунологических показателей и параметров кислородзависимого метаболизма нейтрофилов крови у больных ПКР в зависимости от гистологической структуры опухоли.

Материалы и методы

Под наблюдением находились 93 больных местно-распространенным раком почки ($T_3N_0M_0$) в возрасте 45–55 лет в период до операции и через 14 дней после радикальной нефрэктомии. Исследования проводили на базе урологического отделения Красноярского краевого клинического онкологического диспансера. Диагноз у всех больных верифицировали морфологически: у 63 — светлоклеточный (1-я группа) и у 30 — смешанный гистологический тип ПКР (2-я группа).

Контрольную группу составили 40 здоровых доноров.

Мононуклеары выделяли из гепаринизированной венозной крови центрифугированием в градиенте плотности фиколл-верографина [6]. Методом непрямой иммунофлуоресценции, используя люминесцентный микроскоп AXIO Lab. A1 («Zeiss»), Германия и FITC-меченые антитела серии CD «Сорбент» определяли содержание $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD16^+$, $CD19^+$, HLA-DR⁺ клеток в периферической крови.

Концентрацию иммуноглобулинов А, М, G в сыворотке крови оценивали методом радиальной иммунодиффузии в геле [8].

Оценку спонтанной и индуцированной хемилюминесценции (ХЛ) нейтрофилов крови прово-

дили по методу De Sole et al. на биохемилюминесцентном анализаторе «CL 3606 М» (Россия) [7].

Определяли следующие параметры: время выхода на максимум (T_{max}), максимальное значение (I_{max}) и площадь (S) хемилюминесцентной кривой. В качестве индуктора «дыхательного взрыва» использовали опсонизированный зимозан в концентрации 2 мг/мл («Sigma», США). Усиление хемилюминесценции, индуцированной зимозаном, относительно спонтанной хемилюминесценции оценивали соотношением $S_{зим.}/S_{спон.}$ и определяли как индекс активации.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета прикладных программ «STATISTICA 6.0» (StatSoft, Inc., США). Достоверность исследуемых показателей в независимых выборках анализировали с помощью критерия Манна–Уитни. Результаты исследования количественных параметров в группах сравнения представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного интервала, где LQ — 25% процентиль, UA — 75% процентиль.

Результаты и обсуждение

Анализ проведенных исследований установил у больных 1-й группы в дооперационном периоде снижение процентного содержания и абсолютного числа лимфоцитов в периферической крови относительно параметров контрольной группы (табл. 1). Изучение иммунофенотипического спектра лимфоцитов крови позволило выявить статистически значимое повышение процентного содержания лимфоцитов, несущих активационный маркер HLA-DR⁺, уменьшение абсолютного числа зрелых Т-лимфоцитов ($CD3^+$) и $CD19^+$ клеток относительно параметров группы контроля (табл. 1). Необходимо отметить снижение количества $CD4^+$ лимфоцитов как по относительным, так и по абсолютным показателям по сравнению с величинами контрольной группы (табл. 1). Уровни IgA, IgM и IgG в сыворотке крови не имели статистически значимых различий с контрольными показателями (табл. 2).

Исследование иммунологических показателей у больных 2-й группы в период до хирургического лечения обнаружило снижение процентного содержания лимфоцитов в периферической крови и уменьшение абсолютного числа $CD19^+$ клеток по сравнению с параметрами группы контроля (табл. 1). При оценке показателей гуморального звена иммунитета статистически значимых различий с величинами контрольной группы не выявлено (табл. 2).

В период после оперативного вмешательства у больных 1-й группы сохраняется снижение процентного содержания и абсолютного числа лимфоцитов периферической крови относитель-

ТАБЛИЦА 1. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У БОЛЬНЫХ ПКР В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО ТИПА ОПУХОЛИ (Ме, LQ-UQ)

Параметр	Контрольная группа	1-ая группа		2-ая группа	
		До операции	После операции	До операции	После операции
	N = 40 1	N = 48 2	N = 30 3	N = 16 4	N = 15 5
Лейкоциты, (10 ⁹ /л)	5,20 4,30-7,30	5,00 4,44-6,20	5,5 4,60-6,20	5,15 4,70-6,90	5,75 5,00-8,20
Лимфоциты, (%)	32,50 26,50-37,00	20,00 13,00-24,00 p ₁ < 0,01	17,00 11,00-22,00 p ₁ < 0,01 p ₂ < 0,05	23,50 18,00-29,00 p ₁ < 0,01	14,00 10,00-18,00 p ₁ < 0,01 p ₄ < 0,001
Лимфоциты, (10 ⁹ /л)	1,42 1,2,-2,22	0,92 0,65-13,0 p ₁ < 0,01	0,84 0,65-1,18 p ₁ < 0,01	1,24 0,84-1,95	0,76 0,68-1,38 p ₁ < 0,01
CD3 ⁺ , (%)	48,5, 43,5-55,0,	45,00 40,00-51,00	44,00 40,00-49,50 p ₁ < 0,05	49,50 44,50-53,00	47,00 37,00-54,00
CD3 ⁺ , (10 ⁹ /л)	0,66 0,49-1,12	0,45 0,27-0,60 p ₁ < 0,01	0,33 0,24-0,48 p ₁ < 0,01	0,68 0,62-0,85	0,43 0,32-0,67 p ₃ < 0,05
CD4 ⁺ , (%)	28,00 21,5,-30,00	21,00 16,00-27,00 p ₁ < 0,01	22,50 19,50-30,00	23,50 20,50-31,00	24,00 16,00-31,00
CD4 ⁺ , (10 ⁹ /л)	0,41 0,30-0,50	0,18 0,13-0,28 p ₁ < 0,01	0,16 0,12-0,27 p ₁ < 0,01	0,31 0,21-0,55 p ₂ < 0,05	0,18 0,12-0,44
CD8 ⁺ , (%)	21,00 18,50-28,00	22,00 19,00-30,00	20,00 15,5-25,5 p ₂ < 0,05	21,50 18,50-28,00	23,00 14,00-28,00
CD8 ⁺ , (10 ⁹ /л)	0,34 0,19-0,59	0,21 0,14-0,31	0,15 0,1-0,21 p ₁ < 0,01 p ₂ < 0,01	0,33 0,23-0,41	0,20 0,16-0,41 p ₃ < 0,05
CD16 ⁺ , (%)	28,00 21,50-31,00	28,00 20,00-36,00	31,00 24,50-34,00	30,50 25,50-36,50	26,00 23,00-30,00
CD16 ⁺ , (10 ⁹ /л)	0,37 0,27-0,53	0,33 0,20-0,49	0,27 0,17-0,36 p ₁ < 0,01	0,39 0,26-0,50	0,22 0,18-0,53
CD19 ⁺ , (%)	26,00 21,50-31,5	27,00 22,00-30,0	25,50 20,50-31,00	20,00 17,50-25,50 p ₂ < 0,05	25,00 21,00-33,00
CD19 ⁺ , (10 ⁹ /л)	0,46 0,35-0,59	0,26 0,18-0,34 p ₁ < 0,01	0,21 0,14-0,33 p ₁ < 0,01	0,26 0,20-0,41 p ₁ < 0,01	0,34 0,17-0,55
HLA-DR ⁺ , (%)	35,00 25,00-43,00	51,00 40,00-56,00 p ₁ < 0,01	39,50 32,00-50,50 p ₁ < 0,01 p ₂ < 0,05	38,00 26,00-48,00	36,00 28,00-57,50
HLA-DR ⁺ , (10 ⁹ /л)	0,52 0,40-0,59	0,54 0,36-0,83	0,33 0,26-0,50 p _{1,2} < 0,01	0,43 0,40-0,69	0,48 0,39-0,65
CD4/CD8	1,17 0,81-1,50	1,00 0,65-1,18	1,22 0,78-1,91 p ₂ < 0,05	1,28 0,69-1,52	1,13 1,00-2,15

Примечание. p – статистически значимые различия между группами.

ТАБЛИЦА 2. ПОКАЗАТЕЛИ КОНЦЕНТРАЦИИ СЫВОРОТОЧНЫХ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ У БОЛЬНЫХ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО ТИПА ОПУХОЛИ (Me, LQ-UQ)

Параметр	Контрольная группа	1-ая группа		2-ая группа	
		До операции	После операции	До операции	После операции
	N = 40 1	N = 48 2	N = 30 3	N = 16 4	N = 15 5
IgA, (г/л)	2,74 1,76-3,31	2,75 1,20-3,60	2,97 1,70-4,67	2,60 2,00-3,60	1,64 1,00-2,80 $p_3 < 0,05$
IgM, (г/л)	0,90 0,70-1,39	0,80 0,40-1,00	1,10 0,65-1,30	0,90 0,50-1,45	0,90 0,10-1,30
IgG, (г/л)	13,82 10,83-17,85	12,20 6,60-17,10	9,72 6,62-16,30 $p_1 < 0,01$	10,60 7,52-14,40 $p_2 < 0,05$	6,20 4,20-10,00 $p_1 < 0,01$ $p_3 < 0,05$

Примечание. p – статистически значимые различия между группами.

но показателей контрольной группы (табл. 1). Выявлено снижение относительного и абсолютного количества CD3⁺ лимфоцитов и повышение процентного содержания в периферической крови лимфоцитов, экспрессирующих на своей поверхности маркер поздней активации HLA-DR⁺ по сравнению с показателями контрольной группы (табл. 1). Уменьшение абсолютного числа CD3⁺, CD16⁺, CD19⁺, HLA-DR⁺ клеток, очевидно, связано с имеющийся в этот период наблюдения у больных абсолютной лимфопенией (табл. 1).

Следует отметить статистически значимое снижение процентного содержания лимфоцитов, а также относительного и абсолютного числа CD8⁺ и HLA-DR⁺ клеток и повышение процентного соотношения CD4⁺ и CD8⁺ клеток, по сравнению с величинами, зарегистрированными в период до хирургического лечения (табл. 1).

Реакция гуморального звена иммунитета характеризовалась достоверным снижением уровня IgG в сыворотке крови относительно показателей контрольной группы (табл. 2).

Во 2-й группе наблюдаемых больных в период после хирургического лечения установлено статистически значимое снижение процентного содержания и абсолютного количества лимфоцитов периферической и концентрации IgG в крови относительно контрольных значений (табл. 1, 2). Обнаружено достоверное снижение процентного содержания лимфоцитов периферической крови по сравнению с показателями, установленными в период до хирургического лечения (табл. 1).

Сравнительный анализ показал, что в период до операции абсолютное число CD4⁺ клеток у больных 2-й группы достоверно увеличено, а процентное содержание CD19⁺ лимфоцитов статистически значимо снижено относительно показателей у больных 1-й группы. В перио-

де после хирургического лечения у больных 2-й группы отмечалось повышение абсолютного числа зрелых Т-лимфоцитов (CD3⁺) и CD8⁺ клеток по сравнению с параметрами у больных 1-й группы (табл. 1). Необходимо отметить, что в период до операции у больных 2-й группы наблюдалось понижение уровня IgG в сыворотке крови относительно величины у больных 1-й группы. В послеоперационном периоде сохранялось снижение концентрации IgG в сыворотке крови по сравнению с показателями у больных 1-й группы. Кроме того, в данный период наблюдения у больных 1-й группы уровень IgA в сыворотке крови статистически значимо превосходил показатели у больных 2-й группы (табл. 2).

Таким образом, у больных со светлоклеточным гистологическим типом ПКР в дооперационном периоде снижено абсолютное число зрелых Т-лимфоцитов (CD3⁺), CD19⁺ клеток, а также снижено процентное и абсолютное количество CD4⁺ клеток. На фоне повышения процентного содержания клеток, экспрессирующих маркер «поздней» активации HLA-DR⁺, отмечается снижение их абсолютного числа. При этом у больных со смешанным гистологическим типом ПКР обнаружено только снижение абсолютного числа CD19⁺ клеток в периферической крови.

В послеоперационном периоде у больных со светлоклеточным гистологическим типом ПКР наблюдается снижение абсолютного числа CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD19⁺ клеток и сохраняется на фоне повышения относительного количества клеток, экспрессирующих активационный маркер HLA-DR⁺, снижение их абсолютного числа. В группе больных со смешанным гистологическим типом ПКР величины исследуемых показателей статистически значимых различий с контрольными параметрами не имеют.

Исследование концентрации сывороточных иммуноглобулинов (IgA, IgM и IgG) у больных ПКР выявило повышение уровня IgG у больных со светлоклеточным гистологическим типом как в периоде до операции, так и после хирургического лечения по сравнению с группой больных со смешанным гистологическим типом ПКР. Необходимо отметить снижение в 1,8 раза ($p < 0,05$) концентрации IgA в сыворотке крови в послеоперационном периоде у больных со смешанным гистологическим типом ПКР относительно показателей в группе больных со светлоклеточным гистологическим типом ПКР.

Изучение показателей спонтанной хемилюминесценции нейтрофилов крови у больных 1-й группы в дооперационном периоде установило в 2,2 раза ($p < 0,001$) сокращение времени выхода на максимум ХЛ-кривой относительно показателей контрольной группы (табл. 3). При индукции ХЛ-реакции опсонизированным зимозаном

достоверно снижается максимальный уровень «дыхательной вспышки» и уменьшается площадь ХЛ-кривой по сравнению с параметрами контрольной группы (табл. 3). Кроме того, наблюдается снижение индекса активации относительно контроля, что отражает пониженные компенсаторные возможности нейтрофилов крови у больных 1-й группы.

В период после оперативного вмешательства выявлено ускорение времени выхода на максимум ХЛ-кривой, снижение интенсивности ХЛ-ответа и уменьшение площади ХЛ-кривой по сравнению со значениями контрольной группы (табл. 3). Необходимо отметить, что уровень максимального значения спонтанной ХЛ-кривой в данный период наблюдения оказался в 2 раза ($p < 0,01$) ниже, чем в периоде до операции. Оценка параметров индуцированной хемилюминесценции нейтрофилов крови показала статистически значимое понижение максимально-

ТАБЛИЦА 3. ПОКАЗАТЕЛИ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ПКР В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО ТИПА ОПУХОЛИ (Me, LQ-UQ)

Показатели	Контрольная группа	1-ая группа		2-ая группа	
		До операции	После операции	До операции	После операции
	N = 33 1	N = 62 2	N = 52 3	N = 25 4	N = 21 5
Спонтанная хемилюминесценция					
Tmax (сек.)	1482 810-1969	677 282-1118 $p_1 < 0,001$	549 284-832 $p_1 < 0,001$	510 268-1073 $p_1 < 0,001$	732 415-1180 $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,05$
Imax (o.e.*10 ³)	33,65 9,23-58,74	33,80 17,36-49,92	16,60 9,07-24,73 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$	20,54 5,99-31,27	15,32 14,20-25,17
S ₁ (o.e.*10 ⁵)	9,93 4,72-17,80	7,93 4,46-13,0	5,70 2,45-9,61 $p_1 < 0,05$	4,83 3,05-7,12 $p_1 < 0,05$	7,14 2,62-10,29
Индукцированная хемилюминесценция					
Tmax (сек.)	1113 889-1322	1112 704-1497	1126 751-1639	1074 808-1461	1081 651-1512
Imax (o.e.*10 ³)	88,58 23,0-189,0	52,57 20,05-87,36 $p_1 < 0,01$	31,2 11,35-43,87 $p_1 < 0,001$	32,14 14,39-65,31 $p_1 < 0,05$	29,10 19,60-43,66 $p_1 < 0,05$
S ₁ (o.e.*10 ⁵)	36,6 6,0-89,5	13,10 4,14-24,30 $p_1 < 0,01$	10,15 4,99-20,15 $p_1 < 0,01$	11,16 7,70-21,10 $p_1 < 0,05$	14,30 6,41-21,4 $p_1 < 0,05$
Индекс активации					
S ₂ / S ₁	3,0 1,6-4,0	2,0 1,0-2,0 $p_1 < 0,01$	2,0 1,2-3 $p_1 < 0,05$	2,0 1,1-5,0	2,0 1,0-3,0 $p_1 < 0,05$

Примечание. p – статистически значимые различия между группами.

го уровня и уменьшение площади ХЛ-кривой, а также достоверное снижение величины индекса активации относительно параметров контрольной группы (табл. 3).

Анализ показателей хемилюминесценции нейтрофилов крови у больных 2-й группы установил в периоде до хирургического лечения сокращение времени выхода на максимум и уменьшение площади спонтанной ХЛ-кривой по сравнению со значениями контрольной группы (табл. 3). В то же время наблюдается снижение максимального уровня и уменьшение площади индуцированной зимозаном хемилюминесценции относительно величин контроля. Исследования, проведенные у больных 2-й группы в периоде после оперативного вмешательства, обнаружили сохранение ускорения времени выхода на максимум спонтанной ХЛ-кривой, а также снижение максимального уровня и уменьшение площади индуцированной ХЛ-кривой по сравнению с показателями контрольной группы. Необходимо отметить достоверное снижение индекса активации относительно контрольных значений (табл. 3).

При сравнении исследуемых показателей хемилюминесценции нейтрофилов крови в наблюдаемых группах больных с ПКР выявлены однонаправленные изменения кинетики ХЛ-ответа — сокращение времени выхода на максимум «дыхательной вспышки» фоновой хемилюминесценции как в дооперационном периоде, так и после хирургического лечения. При этом у больных 1-й группы время выхода на максимум

спонтанной ХЛ-кривой статистически значимо меньше, чем у больных 2-й группы (табл. 3). Кроме того, у больных 1-й группы в период до оперативного вмешательства наблюдается снижение способности нейтрофилов крови отвечать на стимуляцию *in vitro*, что проявляется недостаточной генерацией активных форм кислорода и отражает пониженные резервные метаболические возможности данной клеточной популяции.

Заключение

Результаты проведенного исследования установили у больных ПКР изменения иммунофенотипического спектра лимфоцитов периферической крови в зависимости от гистологической структуры опухоли, как в дооперационном периоде, так и в периоде через 14 дней после хирургического лечения. Следует отметить, что у больных со светлоклеточным гистологическим типом ПКР изменения были более выраженными, чем у пациентов со смешанным гистологическим типом ПКР. Исследование концентрации IgA, IgM и IgG в сыворотке крови у больных раком почки, также выявило зависимость изменений их уровня от гистологического типа почечно-клеточного рака как в периоде до операции, так и после хирургического лечения. Кроме того, у больных ПКР наблюдается изменение ХЛ-ответа нейтрофилов крови в зависимости от гистологической структуры опухоли. Вероятно, полученные нами данные необходимо учитывать при разработке иммунокорректирующих мероприятий у пациентов с почечно-клеточным раком.

Список литературы

1. Козлов В.А., Черных Е.Р. Современные проблемы иммунотерапии в онкологии // Бюллетень СО РАМН. — 2004. — № 2. — С. 13-19.
2. Мальцева В.Н., Авхачева Н.В., Сафронова В.Г. Общие закономерности в изменениях функциональной активности нейтрофилов при росте *in vivo* опухолей разной иммуногенности // Иммунология. — 2009. — № 2. — С. 116-119.
3. Молчанов О.Е., Карелин М.И., Иммунологический мониторинг биотерапии диссеминированных форм почечно-клеточного рака // Онкоурология. — 2009. — № 4. — С. 13-18.
4. Пинегин Б.В., Маянский А.Н. Нейтрофилы: структура и функции // Иммунология. — 2007. — № 6. — С. 374-382.

Ссылки 5-8 см. в References (стр. 382). See References for numbers 5-8 at p. 382.

References

1. Kozlov V.A., Chernykh E.R. Sovremennye problemy immunoterapii v onkologii [Contemporary immunotherapy problems in oncology]. *Byulleten' SO RAMN — Bulletin of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2004, no. 2, pp. 13-19.
2. Mal'tseva V.N., Avkhacheva N.V., Safronova V.G. Obshchie zakonomernosti v izmeneniyakh funktsional'noy aktivnosti neytrofilov pri roste *in vivo* opukholey raznoy immunogennosti [General patterns in functional activity changes of neutrophils during the growth *in vivo* of tumors with different immunogenicity]. *Immunologiya — Immunology*, 2009, no. 2, pp. 116-119.

3. Molchanov O.E., Karelin M.I., Immunologicheskiy monitoring bioterapii disseminirovannykh form pochechno-kletochnogo raka [Immunological monitoring of biotherapy disseminated forms of renal cell carcinoma]. *Onkourologiya – Oncourology*, 2009, no. 4, pp. 13-18.
4. Pinegin B.V., Mayanskiy A.N. Neytrofily: struktura i funktsii [Neutrophils: structure and functions]. *Immunologiya – Immunology*, 2007, no. 6, pp. 374-382.
5. Berzofsky J.A., Terabe M. The contrasting roles of NKT cells in tumor immunity. *Curr Mol. Med.*, 2009, no. 9, pp. 667-672.
6. Boyum A. Isolation of lymphocytes from blood and bone marrow. *Scand. Clin. Lab. Invest.*, 1968, vol. 97, no. 21, pp. 77-80.
7. De Sole P., Lippa S., Littarru G.P. Whole blood chemiluminescence: a new technical approach to assess oxygen-dependent microbial activity of granulocytes. *J. Clin. Lab. Autom.*, 1983, no. 3, pp. 391-400.
8. Mancini G., Carbonaro A.O., Haremans J.F. Immunochemical quantitation of antigens by single radial diffusion. *Immunochemistry*, 1965, vol. 2, no. 3, pp. 235-255.