



New Day in Medicine
Новый День в Медицине

NDM



TIBBIYOTDA YANGI KUN

Ilmiy referativ, marifiy-ma'naviy jurnal



AVICENNA-MED.UZ



ISSN 2181-712X.
EiSSN 2181-2187

3 (77) 2025

Сопредседатели редакционной коллегии:

**Ш. Ж. ТЕШАЕВ,
А. Ш. РЕВИШВИЛИ**

Ред. коллегия:

М.И. АБДУЛЛАЕВ
А.А. АБДУМАЖИДОВ
Р.Б. АБДУЛЛАЕВ
Л.М. АБДУЛЛАЕВА
А.Ш. АБДУМАЖИДОВ
М.А. АБДУЛЛАЕВА
Х.А. АБДУМАДЖИДОВ
Б.З. АБДУСАМАТОВ
М.М. АКБАРОВ
Х.А. АКИЛОВ
М.М. АЛИЕВ
С.Ж. АМИНОВ
Ш.Э. АМОНОВ
Ш.М. АХМЕДОВ
Ю.М. АХМЕДОВ
С.М. АХМЕДОВА
Т.А. АСКАРОВ
М.А. АРТИКОВА
Ж.Б. БЕКНАЗАРОВ (главный редактор)
Е.А. БЕРДИЕВ
Б.Т. БУЗРУКОВ
Р.К. ДАДАБАЕВА
М.Н. ДАМИНОВА
К.А. ДЕХКОНОВ
Э.С. ДЖУМАБАЕВ
А.А. ДЖАЛИЛОВ
Н.Н. ЗОЛотова
А.Ш. ИНОЯТОВ
С. ИНДАМИНОВ
А.И. ИСКАНДАРОВ
А.С. ИЛЪЯСОВ
Э.Э. КОБИЛОВ
А.М. МАННАНОВ
Д.М. МУСАЕВА
Т.С. МУСАЕВ
М.Р. МИРЗОЕВА
Ф.Г. НАЗИРОВ
Н.А. НУРАЛИЕВА
Ф.С. ОРИПОВ
Б.Т. РАХИМОВ
Х.А. РАСУЛОВ
Ш.И. РУЗИЕВ
С.А. РУЗИБОВ
С.А. ГАФФОРОВ
С.Т. ШАТМАНОВ (Кыргызстан)
Ж.Б. САТТАРОВ
Б.Б. САФОВ (отв. редактор)
И.А. САТИВАЛДИЕВА
Ш.Т. САЛИМОВ
Д.И. ТУКСАНОВА
М.М. ТАДЖИЕВ
А.Ж. ХАМРАЕВ
Д.А. ХАСАНОВА
А.М. ШАМСИЕВ
А.К. ШАДМАНОВ
Н.Ж. ЭРМАТОВ
Б.Б. ЕРГАШЕВ
Н.Ш. ЕРГАШЕВ
И.Р. ЮЛДАШЕВ
Д.Х. ЮЛДАШЕВА
А.С. ЮСУПОВ
Ш.Ш. ЯРИКУЛОВ
М.Ш. ХАКИМОВ
Д.О. ИВАНОВ (Россия)
К.А. ЕГЕЗАРЯН (Россия)
DONG JINCHENG (Китай)
КУЗАКОВ В.Е. (Россия)
Я. МЕЙЕРНИК (Словакия)
В.А. МИТИШ (Россия)
В.И. ПРИМАКОВ (Беларусь)
О.В. ПЕШИКОВ (Россия)
А.А. ПОТАПОВ (Россия)
А.А. ТЕПЛОВ (Россия)
Т.Ш. ШАРМАНОВ (Казахстан)
А.А. ЩЕГОЛОВ (Россия)
С.Н. ГУСЕЙНОВА (Азербайджан)
Prof. Dr. KURBANHAN MUSLUMOV (Azerbaijan)
Prof. Dr. DENIZ UYAK (Germany)

ТИББИЁТДА ЯНГИ КУН НОВЫЙ ДЕНЬ В МЕДИЦИНЕ NEW DAY IN MEDICINE

*Илмий-рефератив, маънавий-маърифий журнал
Научно-реферативный,
духовно-просветительский журнал*

УЧРЕДИТЕЛИ:

**БУХАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ
ООО «ТИББИЁТДА ЯНГИ КУН»**

Национальный медицинский
исследовательский центр хирургии имени
А.В. Вишневского является генеральным
научно-практическим
консультантом редакции

Журнал был включен в список журнальных
изданий, рецензируемых Высшей
Аттестационной Комиссией
Республики Узбекистан
(Протокол № 201/03 от 30.12.2013 г.)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

М.М. АБДУРАХМАНОВ (Бухара)
Г.Ж. ЖАРЫЛКАСЫНОВА (Бухара)
А.Ш. ИНОЯТОВ (Ташкент)
Г.А. ИХТИЁРОВА (Бухара)
Ш.И. КАРИМОВ (Ташкент)
У.К. КАЮМОВ (Тошкент)
Ш.И. НАВРУЗОВА (Бухара)
А.А. НОСИРОВ (Ташкент)
А.Р. ОБЛОКУЛОВ (Бухара)
Б.Т. ОДИЛОВА (Ташкент)
Ш.Т. УРАКОВ (Бухара)

3 (77)

2025

март

www.bsmi.uz

<https://newdaymedicine.com> E:

ndmuz@mail.ru

Тел: +99890 8061882

УДК 616.33-006.6-08:612.0121

СРАВНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМНОГО И ЛОКАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА В ПРОЦЕССЕ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ РАКОМ ЖЕЛУДКА

^{1,2}Кадыров Ш.Ш. <https://orcid.org/0000-0002-6783-5974>

^{1,2}Хакимова Г.Г. <https://orcid.org/0000-0002-4970-5429>

^{1,2}Хакимов Г.А. <https://orcid.org/0009-0007-8377-960>

¹Салохиддинов Х.А. <https://orcid.org/0009-0007-6236-1951>

^{1,2}Урмонов У.Б. <https://orcid.org/0009-0003-0953-6645>

¹Ташкентский педиатрический медицинский институт, 100140, Узбекистан Ташкент, ул. Богишамол, 223, тел: 8 71 260 36 58 E.mail: interdep@tashpmi.uz

²Ташкентский городской филиал Республиканского специализированного научно-практического центра онкологии и радиологии 100070, Республики Узбекистан, город Ташкент Чиланзарский район, ул. БАГИСТАН, дом 1 Тел: (+998) 71 278-73-19 E-mail: gabul@tashoncocenter.uz

✓ Резюме

Цель. Изучить состояние системного иммунитета и локального иммунитета до и в процессе лекарственного лечения у больных аденокарциномой желудка.

Материалы и методы. С 2017 по 2018 г. в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» 20 первичных метастатических больных аденокарциномой желудка получили лекарственную терапию. Забор биологического материала (периферической крови, опухолевой ткани) осуществлялся двукратно (перед лечением и во время первого контрольного обследования, через 3 курса). Методом проточной цитометрии оценивались процентное содержание степени инфильтрации опухолевой ткани лимфоцитами (CD45+CD14-TILs); Т-клеток (CD3+CD19-TILs); В-клеток (CD3-CD19+TILs); NK-клеток (CD3-CD16+CD56+TILs); CD16 и CD8 эффекторных клеток и их цитотоксического потенциала (ЦТП) (CD16+Perforin+TILs; CD16ЦТПTILs), (CD8+Perforin+TILs; CD8ЦТПTILs); регуляторных Т-клеток – NKT-клеток (CD3+CD16+CD56+TILs), CD4 (CD4+CD25+CD127-TILs) и CD8 (CD8+CD11b-CD28-TILs) регуляторных клеток и данные параметры системного иммунитета. **Результаты.** Фактором благоприятного прогноза в отношении ВБП у пациентов с метастатическим раком желудка в периферической крови явилось повышение числа CD8+ Т-регуляторных клеток (5,1% - 12,1%, $p=0,019$), а в опухолевой ткани – повышение перфоринового потенциала эффекторных CD16 клеток (0,5% - 4,9%, $p=0,030$) и их цитотоксического потенциала (13,2% - 55,7%, $p=0,011$). При оценке характера изменения показателей локального иммунитета в процессе ХТ отмечено негативное влияние увеличения содержания Т-клеток (22,0% - 9,7%, $p=0,012$), NKT – клеток (207,9% - 13,8%, $p=0,002$) и CD4+ Т-регуляторных клеток (190,7% - 25,2%, $p=0,002$). Напротив, увеличение уровня эффекторных CD16-клеток в процессе химиотерапии увеличивает вероятность пережить ВБП – 9 месяцев (-69,5% - 9,1%, $p=0,013$).

Вывод. Показатели локального и системного иммунитета служат дополнительными прогностическими факторами при раке желудка.

Ключевые слова: метастатический рак желудка; клеточный иммунитет; локальный иммунитет, химиотерапия.

COMPARISON OF SYSTEMIC AND LOCAL IMMUNITY INDICATORS IN THE TREATMENT OF STOMACH CANCER PATIENTS

^{1,2}Kadirov Sh.Sh. <https://orcid.org/0000-0002-6783-5974>

^{1,2}Xakimova G.G. <https://orcid.org/0000-0002-4970-5429>

^{1,2}Xakimov G.A. <https://orcid.org/0009-0007-8377-960>

¹Saloxiddinov X.A. <https://orcid.org/0009-0007-6236-1951>

^{1,2}Urmonov U.B. <https://orcid.org/0009-0003-0953-6645>

¹Tashkent Pediatric Medical Institute, Uzbekistan 100140, Tashkent,
223 Bogishamol St, tel: 8 71 260 36 58 E.mail: interdep@tashpmi.uz

²Tashkent city branch of the Republican specialized scientific and practical center of oncology and radiology 100070, Republic of Uzbekistan, Tashkent city Chilanazar district, BAGISTAN street,
house 1 Tel: (+998) 71 278-73-19 E-mail: gabul@tashoncocenter.uz

✓ **Resume**

Purpose. To study the state of systemic immunity and local immunity before and during chemotherapy in patients with gastric adenocarcinoma.

Materials and methods. From 2017 to 2018 at the N.N.Blokhin NMRC of oncology 20 primary metastatic patients with gastric adenocarcinoma received chemotherapy. The sampling of biological material (peripheral blood, tumor tissue) was carried out twice (before treatment and during the first control examination, after 3 courses). The percentage of the degree of infiltration of tumor tissue by lymphocytes (CD45+CD14-TILs) was estimated by flow cytometry; T cells (CD3+CD19-TILs);

B cells (CD3-CD19+TILs); NK cells (CD3-CD16+CD56+TILs); CD16 and CD8 effector cells and their cytotoxic potential (CTP) (CD16+Perforin+TILs; CD16CTPTILs), (CD8+Perforin+TILs; CD8CTPTILs); regulatory T cells - NKT cells (CD3+CD16+CD56+TILs), CD4 (CD4+CD25+CD127-TILs) and CD8 (CD8+CD11b-CD28-TILs) regulatory cells and these parameters of systemic results. The factor of a favorable prognosis for PFS in patients with metastatic gastric cancer in the peripheral blood was an increase in the number of CD8 + T-regulatory cells (5.1% - 12.1%, $p = 0.019$), and in tumor tissue - an increase in the perforin potential of effector CD16 cells (0.5% - 4.9%, $p = 0.030$) and their cytotoxic potential (13.2% - 55.7%, $p = 0.011$). When assessing the changes in the indices of local immunity during chemotherapy, it was noted a negative effect of an increase of T cells (22.0% - -9.7%, $p = 0.012$), NKT - cells (207.9% - -13.8%, $p = 0.002$) and CD4 + T-regulatory cells (190.7% - -25.2%, $p = 0.002$). In contrast, an increase in the level of effector CD16 cells during chemotherapy increases the likelihood of surviving PFS - 9 months (-69.5% - 9.1%, $p = 0.013$).

Conclusion. Indicators of local and systemic immunity serve as additional prognostic factors for gastric cancer.

Key words: metastatic stomach cancer; cellular immunity; local immunity, chemotherapy.

Актуальность

Рак желудка (РЖ) занимает 5-е место среди онкологических заболеваний (1313000 случаев) и является 3-й причиной смертности от рака (819000 случаев смерти) в мире [1]. В настоящее время не вызывает сомнения, что злокачественная опухоль – это динамическая система, рассматриваемая в комплексе со всеми морфологическими составляющими, формирующими ее микроокружение: клетки стромы, клетки системы иммунитета, кровеносные, лимфатические сосуды и экстрацеллюлярный матрикс [1,2]. Опухоль-инфильтрирующие лимфоциты (TILs) являются объектом активного изучения [3–5]. Им отводится ключевая роль в концепции «противоопухолевого иммунитета». Кроме этого, клетки системного иммунитета отвечают как за подавление опухолевого роста [6] и напротив, коррелируют с неблагоприятным прогнозом [7,8]. Таким образом, за последние 20-30 лет достигнуты большие успехи в терапии РЖ. Важным этапом в разработке новых терапевтических агентов стало понимание роли прогностических и предиктивных факторов, включая значение субпопуляционного состава иммунокомпетентных клеток и биологии опухоли.

Целью данной работы явилось комплексное изучение структуры опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов (tumor-infiltrating lymphocytes – TILs), системного иммунитета до и в процессе лечения у метастатических больных аденокарциномой желудка.

Материал и методы

В проспективное исследование включены больные метастатическим РЖ (мРЖ), проходившие лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» в период с 2017 по 2018 г. Пациентам проводилось 9 двухнедельных циклов химиотерапии (ХТ) I линии либо 6 трехнедельных курсов с последующим наблюдением до прогрессирования болезни. Анализ иммунного статуса по морфологическому материалу и периферической крови осуществлялся дважды (до начала лечения и после 3-4 курсов химиотерапии).

Основные критерии включения пациентов в исследование: возраст старше 18 лет, морфологическая верификация опухоли – аденокарцинома желудка, вне зависимости от стадии заболевания. Основные критерии исключения: наличие в анамнезе воспалительных заболеваний за последние 3 мес., поддерживающая антибактериальная и иммуномодулирующая терапия на момент включения в исследование.

Лабораторные методы

Анализ показателей субпопуляций лимфоцитов периферической крови и опухолевой ткани осуществлялся методом проточной цитометрии в целях определения структуры иммунных клеток: степени инфильтрации опухолевой ткани лимфоцитами (CD45+CD14-TILs); Т-клеток (CD3+CD19-TILs); В-клеток (CD3-CD19+TILs); NK-клеток (CD3-CD16+CD56+TILs); эффекторных клеток CD16 (CD16+Perforin+TILs), CD8 (CD8+Perforin+TILs) и их цитотоксического потенциала – CD16ЦТПТILs и CD8ЦТПТILs; субпопуляций регуляторных Т-клеток – NKT-клеток (CD3+CD16+CD56+TILs), регуляторных CD4 (CD4+CD25+CD127-TILs) и CD8 (CD8+CD11b-CD28-TILs) клеток и данных показателей клеточного иммунитета.

Проточно-цитометрический анализ

Структуру субпопуляций иммунокомпетентных клеток оценивали по связыванию с моноклональными антителами различной специфичности методом многопараметрового количественного анализа на проточном цитометре FACSCalibur (BD Biosciences). Для каждого образца анализировали не менее 500–5000 клеток в CD45+ гейте. Использовали DotPlot-анализ цитограмм с коммерческим программным обеспечением BD CellQuest PRO software (BD Biosciences). Дальнейшую обработку FSC-файлов первичных цитометрических данных проводили с использованием программного пакета WinMDI, версия 2.8.

Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка материала и расчеты показателей проведены с использованием статистического пакета программ Statistica for Windows v.10 и SPSS v21. Достоверность различий между количественными показателями вычисляли по критерию t Стьюдента для нормально распределенных величин или по непараметрическим критериям Манна–Уитни и Вилкоксона. Для сравнения качественных 2 параметров применяли точный критерий Фишера и χ^2 . Различия считали значимыми при $p < 0,05$ (95% точности). Степень взаимосвязи параметров оценивали с помощью корреляционного анализа по Спирмену.

Статистическая обработка материала и расчеты показателей проведены с использованием статистического пакета лицензионных программ Statistica для Windows v. 10 (однофакторный анализ, корреляционный анализ по Спирмену, описательная статистика сравнения количественных показателей по Манну–Уитни, анализ Каплана–Майера) и SPSS v21 (ROC-кривые, многофакторный анализ). Количественные переменные отклонялись от нормального распределения (тест Колмогорова–Смирнова) и представлены медианой с указанием 25-го и 75-го квартилей. Категориальные переменные выражали в процентах и абсолютных значениях.

Статистическую значимость различий между количественными показателями вычисляли по t-критерию Стьюдента по непараметрическим критериям Манна–Уитни и Вилкоксона. Для сравнения качественных параметров применяли точный критерий Фишера и χ^2 . Различия считали значимыми при $p < 0,05$ (допустимый уровень α -ошибки 5%). Степень взаимосвязи параметров оценивали с помощью корреляционного анализа по Спирмену. Определение границ с оптимальным соотношением чувствительности и специфичности выполняли методом построения ROC-кривой.

Результат и обсуждения

В исследование было включено 20 пациентов мРЖ – 9 (45%) мужчин и 11 (55%) женщин. Возраст пациентов варьировал от 44 до 64 лет (средний возраст - 58 лет). В зависимости от разбиения пациентов на возрастные группы – до 45 лет; 46–60 лет; старше 60 лет, пациенты преимущественно относились к 3-ей группе – 9(45%) соответственно. У больных мРЖ опухоль низкодифференцированная -12 (60%) и представлена кишечным типом Lauren 12(60%). Статус HER2neu был позитивным у 6(30%) больных. У 20 больных нарушений в системе репарации не отмечено (MSS). Среднее время наблюдения за больными составило $16,4 \pm 6,2$ мес. (от 0,7 до

23,6мес, медиана 18,5мес). В хирургической группе у 2 пациентов (4%) имел место высокий уровень MSI.

Исследование клеточного иммунитета в периферической крови. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1. Динамика показателей иммунофенотипа лимфоцитов периферической крови в процессе лечения у больных метастатическим раком желудка.

Показатели клеточного иммунитета в крови	До химиотерапии		В процессе химиотерапии		p
	медиана	квартили	медиана	квартили	
CD3+CD19-	75,4	66,9-81,8	77,9	65,6-85,2	0,090
CD3-CD19+	0,7	0,6-1,5	1,3	0,6-2,6	0,053
CD3-CD16+CD56+	20,2	9,4-24,6	13,8	9,3-26,2	0,864
CD3+CD4+	37,2	29,8-51,6	39,7	34,8-47,3	0,233
CD3+CD8+	24,7	20,4-36,2	31,4	28,3-35,7	0,140
CD16+Perforin+	17,7	14,6-27,2	14,1	5,9-20,2	0,031
CD16ЦТП	81,9	60,9-93,2	64,3	49,2-83,4	0,009
CD8+Perforin+	22,9	10,5-27,3	17,1	11,5-26,8	0,691
CD8ЦТП	64,3	45,7-66,0	49,3	41,8-70,9	0,112
CD3+CD16+CD56+	11,4	8,8-20,0	16,2	11,7-18,7	0,069
CD4+CD25+CD127-	6,2	5,2-8,4	47,0	32,3-62,5	0,007
CD8+CD11b-CD28-	12,1	10,2-17,6	18,4	11,7-45,6	0,031

Таким образом, процентное содержание эффекторных CD16+ клеток и их цитотоксического потенциала до начала химиотерапии было выше чем в процессе лечения ($p=0,031$; $p=0,009$). Однако, после проведения 3-4 курсов химиотерапии отмечается статистически значимое повышение процента Т-регуляторных клеток с фенотипами CD4+CD25+CD127- ($p=0,007$) и CD8+CD11b-CD28 ($p=0,031$).

Для оценки возможности предсказать раннее прогрессирование у пациентов мРЖ по показателям крови уже до начала лечения, мы сравнили результаты исследования системного клеточного иммунитета в подгруппах, где прогрессирование заболевания зарегистрировано в сроки до 6 месяцев и позднее (Таблица 2).

Из таблицы следует, что высокий уровень CD8 Т-регуляторных клеток с фенотипом CD8+CD11b-CD28- до начала лечения является прогностическим фактором благоприятного прогноза ($p=0,019$).

Характер изменения показателей в процессе ХТ также может быть информативен для предсказания раннего прогрессирования, поэтому мы сравнили величину данного изменения в зависимости от сроков прогрессирования.

Однако у пациентов, обследованных в динамике раннее прогрессирование не отмечено (до 6 месяцев). Поэтому для анализа динамики показателей, мы выбрали границу сроков прогрессирования в 9 месяцев. Среди «линейной» структуры лимфоцитов медиана Т- и В-клеток растет у больных с прогрессированием до и после 9 месяцев, 8,3% против 2,4%; 283,3% против 22,9%, соответственно. Уровень NK-клеток снижается у больных мРЖ с прогрессированием до 9 месяцев, и наоборот увеличивается при прогрессировании после 9 месяцев (-35,7% против

10,2%). Медианы CD4+ и CD8+ цитотоксических лимфоцитов до и в процессе терапии росли у пациентов с мРЖ при прогрессировании до и после 9 месяцев, 27,2% против 4,2%; 11,7% против 26,9%, соответственно. Медианы эффекторных CD16 и CD8 клеток снижались у больных с прогрессированием заболевания до 9 месяцев и обратно росли при прогрессировании после 9 месяцев, – 69,5% против 9,1%, – 1,8% против 11,4% соответственно. Значения их цитотоксического потенциала снижались в обоих случаях, –21,5% против – 16,2%, – 9,6% против – 1,2%, соответственно. При этом статистически значимо изменялся процент в зависимости от времени прогрессирования (до и после 9 месяцев) эффекторные CD16 клетки с фенотипом CD16+Perforin+, – 69,5% против 9,1%, соответственно ($p=0,013$). Дельты значений Т-регуляторных клеток с фенотипом CD4+ и CD8+, а также NKT-клеток росли и составили 750,0% против 494,1%, 0,6% против 141,0% и 44,3% против 34,5%, соответственно.

Таблица 2. Различия показателей крови до начала лечения в зависимости от риска прогрессирования в ранние сроки у больных метастатическим раком желудка (до 6 месяцев, $n=5$ / после 6 месяцев, $n=15$)

Показатели клеточного иммунитета в крови до лечения	Прогрессирование до 6 месяцев ($n=5$)		Прогрессирование после 6 месяцев ($n=15$)		p
	медиана	квартили	медиана	квартили	
CD3+CD19-	64,1	63,6-64,2	75,4	66,9-81,8	0,168
CD3-CD19+	1,3	1,1-1,6	0,7	0,6-1,5	0,081
CD3-CD16+CD56+	30,6	30,2-31,1	20,2	9,4-24,6	0,168
CD3+CD4+	37,4	35,0-40,4	37,2	29,8-51,6	1,000
CD3+CD8+	24,2	20,5-24,9	24,7	20,4-36,2	0,553
CD16+Perforin+	26,9	24,3-30,0	17,7	14,6-27,2	0,306
CD16ЦТП	84,1	81,3-88,1	81,9	60,9-93,2	0,933
CD8+Perforin+	25,2	24,1-29,0	22,9	10,5-27,3	0,230
CD8ЦТП	76,4	68,9-78,4	64,3	45,7-66,0	0,142
CD3+CD16+CD56+	8,5	7,6-10,8	11,4	8,8-20,0	0,306
CD4+CD25+CD127-	8,1	6,5-8,4	6,2	5,2-8,4	0,800
CD8+CD11b-CD28-	5,1	2,3-8,6	12,1	10,2-17,6	0,019

Таким образом, больным мРЖ до начала лечения характерно повышение уровня эффекторных CD16+Т-клеток ($p=0,031$) и их цитотоксического потенциала ($p=0,009$), тогда как 3-4 курса химиотерапии увеличивает уровень CD4+ и CD8+ Т-регуляторных клеток (0,007), (0,031) соответственно. В то же время, уровень CD8+ Т-регуляторных клеток является прогностическим фактором благоприятного прогноза для выживаемости без прогрессирования (ВБП). У пациентов с высоким уровнем CD8+ Т-регуляторных клеток до начала лечения статистически значимо выше вероятность пережить ВБП – 6 месяцев ($p=0,019$). Однако, увеличение уровня эффекторных CD16-клеток в процессе химиотерапии увеличивает вероятность пережить ВБП – 9 месяцев ($p=0,013$).

Исследование клеточного состава опухолевой ткани методом проточной цитометрии.
Полученные результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3. Динамика показателей иммунофенотипа лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль, в процессе лечения у больных метастатическим раком желудка.

Показатели клеточного иммунитета в ткани	До химиотерапии		В процессе химиотерапии		p
	медиана	квартили	медиана	квартили	
CD45+CD14-TILs	161,0	59,0-178,0	83,0	45,0-220,0	0,778
CD3+ CD19-TILs	86,6	72,2-92,0	84,0	78,9-91,2	0,683
CD3-CD19+TILs	4,2	0,7-17,7	0,0	0,0-3,0	0,096
CD3-CD16+CD56+TILs	6,9	2,7-10,1	6,1	2,4-13,6	0,826
CD3+CD4+TILs	42,0	26,6-64,6	24,4	14,4-45,0	0,096
CD3+CD8+TILs	3,1	1,5-3,9	5,4	1,7-9,5	0,009
CD16+Perforin+TILs	5,0	3,9-7,1	6,2	3,6-12,5	0,074
CD16ЦТПТILs	55,7	25,1-56,8	64,7	52,1-78,3	0,012
CD8+Perforin+TILs	9,5	5,3-49,6	38,5	7,2-46,5	0,059
CD8ЦТПТILs	19,4	11,5-86,7	67,5	26,6-81,2	0,099
CD3+CD16+CD56+TILs	10,3	5,9-13,7	11,1	9,5-19,4	0,221
CD4+CD25+CD127-TILs	8,6	3,3-16,2	11,5	5,2-15,6	0,638
CD8+CD11b-CD28-TILs	47,9	33,3-69,6	43,1	38,1-50,0	0,638

Из таблицы следует, что цитотоксический потенциал CD16+ TILs ($p=0,012$) и CD3+CD8+ TILs ($p=0,009$) клеток статистически значимо повышается в процессе химиотерапии у больных МРЖ.

Для оценки возможности предсказать раннее прогрессирование у пациентов МРЖ уже до начала лечения, мы аналогично сравнили результаты исследования локального иммунитета в подгруппах, где прогрессирование заболевания зарегистрировано в сроки до 6 месяцев и позднее (Таблица 4).

Таким образом, низкий уровень перфоринового потенциала эффекторных CD16 клеток ($p=0,030$) и их цитотоксического потенциала ($p=0,011$) до начала химиотерапии являются неблагоприятным фактором и могут свидетельствовать о более высоком риске и вероятности прогрессирования до 6 месяцев.

При оценке характера изменения показателей в процессе ХТ для предсказания раннего прогрессирования, мы также выбрали границу сроков прогрессирования в 9 месяцев. Отмечено, что для пациентов с прогрессированием до 9 месяцев характерно снижение степени инфильтрации опухолевой ткани лимфоцитами, NK-клеток, перфоринового потенциала эффекторных CD8 клеток и цитотоксического потенциала CD16 (-7,5% -18,1%, $p=0,031$) и CD8-клеток, а также CD8+ Т-регуляторных клеток, и, напротив, увеличение Т-клеток (22,0%- -9,7%, $p=0,012$), CD8+ ЦТП, перфоринового потенциала эффекторных CD16 клеток, NKT-клеток (207,9% - -13,8%, $p=0,002$) и CD4+ Т-регуляторных клеток (190,7% - -25,2%, $p=0,002$). Однако, у больных с прогрессированием после 9 месяцев отмечается повышение степени инфильтрации опухолевой ткани лимфоцитами, NK-клеток, перфоринового потенциала эффекторных CD8 клеток и цитотоксического потенциала CD16 и CD8-клеток и CD8+ Т-регуляторных клеток, а уровень Т-клеток, ЦТЛ CD8+ клеток, перфоринового потенциала эффекторных CD16 клеток, NKT-клеток и CD4+ Т-регуляторных клеток снижается.

Таблица 4. – Различия опухолевой ткани до начала лечения в зависимости от риска прогрессирования в ранние сроки у больных метастатическим раком желудка (до 6 месяцев, n=5/ после 6 месяцев, n=15).

Показатели клеточного иммунитета в ткани до лечения	Прогрессирование до 6 месяцев (n=5)		Прогрессирование после 6 месяцев (n=15)		p
	медиана	квартили	медиана	квартили	
CD45+CD14-TILs	3,5	3,3-7,3	2,3	1,7-10,5	0,662
CD3+CD19+TILs	85,9	73,6-87,0	86,6	72,2-92,0	1,000
CD3-CD19+TILs	3,1	2,6-5,3	4,2	0,7-17,7	0,540
CD3-CD16+CD56+TILs	6,0	3,6-7,3	6,9	2,7-10,1	0,725
CD3+CD4+TILs	30,0	22,6-53,7	42,0	26,6-64,6	0,662
CD3+CD8+TILs	46,6	46,3-67,5	30,7	20,0-54,7	0,096
CD16+Perforin+TILs	0,5	0,0-1,9	4,6	3,9-7,1	0,030
CD16ЦПТILs	13,2	0,0-17,4	55,7	25,1-56,8	0,011
CD8+Perforin+TILs	4,1	0,0-22,4	9,5	5,3-49,6	0,161
CD8ЦПТILs	5,4	0,0-59,9	19,4	11,5-86,7	0,334
CD3+CD16+CD56+TILs	20,4	16,9-22,0	10,3	5,9-13,7	0,054
CD4+CD25+CD127-TILs	10,7	6,1-15,0	8,6	3,3-16,2	0,793
CD8+CD11b-CD28-TILs	41,2	31,1-52,9	42,3	33,3-69,6	0,553

Таким образом, у больных МРЖ с прогрессированием до 9 месяцев характерно статистически значимое увеличение Т-клеток ($p=0,012$), НКТ-клеток ($p=0,002$) и CD4+Т-регуляторных клеток ($p=0,002$). Напротив, повышение перфоринового потенциала эффекторных CD16 клеток ($p=0,030$) и их цитотоксического потенциала ($p=0,011$) является благоприятным прогностическим фактором и увеличивает вероятность достичь длительную ВБП.

Данные изменения показателей локального и системного иммунитета в динамике указывают на увеличение цитотоксических CD8+ лимфоцитов, НКТ-клеток и CD4+Т-регуляторных клеток в периферической крови и опухолевой ткани в процессе лечения. Однако, высокий уровень CD8+ Т-регуляторных клеток в периферической крови и низкий уровень перфоринового потенциала эффекторных CD16 клеток и их цитотоксического потенциала в опухолевой ткани до начала лечения свидетельствуют о низком и высоком риске и вероятности прогрессирования до 6 месяцев соответственно. В то же время, повышение уровня эффекторных CD16-клеток в периферической крови и опухолевой ткани до и в процессе лечения является благоприятным прогностическим фактором и увеличивает вероятность прогрессирования после 9 месяцев. Напротив, увеличение Т-клеток, НКТ-клеток и CD4+Т-регуляторных клеток в опухолевой ткани характерно для больных МРЖ с вероятностью прогрессирования до 9 месяцев.

Обсуждение

Развитие рака является сложным процессом, зависящим от взаимодействия отдельных клеток в опухоли, микроокружения и иммунной системы, которые могут как стимулировать, так и подавлять рост и инвазию опухоли [9].

В нашем исследовании представлено новое понимание механизмов, лежащих в основе дисфункции Т-клеток при проведении химиотерапии у больных раком желудка. Так, у 20 больных метастатическим раком желудка после проведения 3-4 курсов химиотерапии отмечалось снижение перфоринового потенциала CD16+ клеток (CD16+Perforin+), 17,7% против 14,1%, ($p=0,031$) и цитотоксического потенциала CD16+ -клеток (CD16ЦТЛ), 81,9% – 64,3%, ($p=0,009$). Напротив, содержание регуляторных минорных популяций лимфоцитов периферической крови с фенотипами CD4+CD25+CD127- и CD8+CD11b-CD28 статистически значимо увеличилось после 3-4 курсов химиотерапии составило 6,2% – 47,0%, ($p=0,00007$); 12,1% – 18,4%, ($p=0,031$) соответственно. Однако результаты исследования He Q. et al. с включением 105 пациентов с местно-распространенным раком желудка разнонаправлены. Образцы крови собирали до и через 1 неделю после последнего введения химиотерапии. Процент CD3+CD8+ лимфоцитов увеличивался после химиотерапии, а содержание CD4+CD25+CD127- регуляторных Т-клеток снижалось ($p=0,003$ и $p<0,001$, соответственно). Повышение Т-лимфоцитов обусловлено активацией Т-клеточного иммунитета, но в нашем исследовании отмечалась лишь незначительная тенденция к их росту после 3-4 курсов химиотерапии, от 24,7% до 31,4%. Однако, при оценке величины изменения показателей системного иммунитета до и в процессе химиотерапии из «линейной» структуры периферической крови только у Т-клеток (CD3+CD19-) наблюдается тенденция к их увеличению. Кроме этого, у пациентов с высоким уровнем CD3+CD8+ ЦТЛ и низким уровнем CD4+ CD25+CD127-Tregs отмечено увеличение ОБ ($p=0,012\%$ и $p=0,048\%$ соответственно). По данным ряда исследований у пациентов с различными видами новообразований выявлена корреляция между CD3+CD19- Т-клетками и CD3+CD8+ ЦТЛ и благоприятным прогнозом [143; 155]. Однако, по данным He Q. et al., содержание CD3+CD19- Т-клеток и CD3+CD4+ЦТЛ после химиотерапии не изменилось и не коррелировало с клиническим течением заболевания, что согласуется с результатами нашего исследования [10].

Соответственно, корреляция между уровнем CD4+CD25+ CD127-Tregs и клиническим исходом указывает на их ключевую роль в прогнозе пациентов раком желудка и может служить биомаркером для выявления пациентов с наилучшим ответом на неoadьювантную химиотерапию.

При сравнении результатов исследования системного клеточного иммунитета в подгруппах, где прогрессирование заболевания зарегистрировано в сроки до 6 месяцев и позднее было выявлено, что высокий уровень CD8 Т-регуляторных клеток до начала лечения является прогностическим фактором благоприятного прогноза, 12,1% против 5,1%, ($p=0,019$). Наши результаты согласуются с недавним исследованием субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови у больных плоскоклеточным раком (ПКРШГ). При анализе 29 больных с ранними (I-II стадии, $n=16$) и поздними (III-IV стадии, $n=13$) стадиями ПКРГШ выявлено, что у больных с ранними стадиями ПКРГШ (группа А) наблюдалось статистически значимое повышение процента CD8+CD11b-CD28- лимфоцитов, 40,0% – 28,6% [11]. По результатам анализа Заботиной Т.Н. и др. при анализе 29 больных с ранними и поздними стадиями ПКРГШ у больных с I-II стадиями ПКРГШ отмечалось повышение содержание CD16 клеток по сравнению с III, IV ст., 22,1% против 18,0% [11]. Соответственно, увеличение уровня эффекторных CD16-клеток с фенотипом CD16+Perforin+ в процессе химиотерапии увеличивает выживаемость без прогрессирования, что также согласуется с нашими результатами.

Учитывая наши результаты и данные зарубежных исследователей, можно предположить, что в периферической крови больных раком желудка реализация эффекторных функций в процессе химиотерапии происходит за счет CD16-клеток, тем самым увеличивая вероятность пережить ВБП – 9 месяцев.

Ряд исследований, посвященных распределению субпопуляций лимфоцитов в опухолевой ткани показали, что TILs связаны с ответом на химиотерапию и прогнозом заболевания [12]. Так, в нашем исследовании при оценке изменения субпопуляционного состава в опухолевой ткани до и в процессе химиотерапии выявлено статистически значимое увеличение процентного содержания цитотоксического потенциала эффекторных CD16+TILs и CD3+CD8+ TILs составив 3,1% против 5,4%, ($p=0,009$), 55,7% против 64,7%, ($p=0,012$) соответственно. Увеличение значения CD3+CD8+ TILs вместе с CD3+CD16+CD56+TILs, CD3+CD19-TILs после ХТ наблюдается и у пациентов местно-распространенным раком молочной железы [13].

Далее, при сравнительном анализе изменений показателей локального и системного иммунитета в динамике выявлено увеличение цитотоксических CD8 лимфоцитов, NKT-клеток и CD4-T-регуляторных клеток в периферической крови и опухолевой ткани у больных мРЖ. По мнению ряда авторов, повышение уровня Tregs как в микроокружении опухоли, так и в периферической крови регистрируется у пациентов раком желудочно-кишечного тракта, раком молочной железы, раком поджелудочной железы, гепатоцеллюлярным раком и т. д. [14;15;16]. Несмотря на противоречивые мнения об изменениях в лимфоцитах периферической крови и в образцах опухолевой ткани при раке желудка, в недавнем японском исследовании 44 больных раком шейки матки при сравнительном анализе иммунных клеток в периферической крови и опухолевой ткани было выявлено, что количество CD3+CD19- Т-лимфоцитов значительно выше в опухолевой ткани, чем в периферической крови 68,58% – 55,59%, ($p<0,001$). Тем не менее, наблюдалось значительное уменьшение популяции CD3+CD4+ Т-клеток в опухолевой ткани по сравнению с периферической кровью 54,04% против 45,85%, ($p<0,013$), тогда как уровень CD3+CD8+ Т-клеток значительно увеличился в опухолевой ткани по сравнению с периферической кровью 32,37% против 44,92%, ($p<0,001$). Более того, доля NK-клеток была значительно выше в опухолевой ткани, чем в периферической крови, 0,33% против 4,38%, ($p<0,079$). При сравнении распределения различных подмножеств лимфоцитов между рецидивирующими пациентами и пациентами без признаков прогрессирования в опухолевой ткани 35 больных, обнаружено, статистически значимое увеличение CD3+CD4+ TILs у больных без прогрессирования 48,07% против 33,12%, ($p=0,018$) и увеличение CD3+CD8 + TILs у рецидивирующих больных раком шейки матки 57,92% против 42,87%, ($p=0,015$). Однако, данные 44 больных по периферической крови явились достоверно не значимыми [17].

Заключение

Соответственно, результаты показали, что распределение субпопуляций лимфоцитов в периферической крови не является оптимальным методом для прогноза заболевания, тогда как определение субпопуляций лимфоцитов в опухолевой ткани имеет прогностическую значимость. Полученные в данном исследовании результаты подтверждают, что наиболее полная информация о состоянии противоопухолевого иммунного ответа у онкологических пациентов может быть получена только при одновременном изучении иммунных клеток периферической крови и клеток, инфильтрирующих опухолевую ткань.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Wu, Y. Clinical significance of peripheral blood and tumor tissue lymphocyte subsets in cervical cancer patients / Y. Wu, S. Ye, S. Goswami et al. / BMC Cancer. 2020;20(1):173.
2. Каприн А. Д., Старинский В. В., Шахзадова О.А. Состояние Онкологической Помощи Населению России. В 2021 Году 2022; 236 стр.
3. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L. et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin 2021;71:209-49. DOI: 10.3322/caac.21660
4. Megan Spafford, Danley Lunn, Peter Graham, Malignant inflammatory myofibroblastic tumor: a rare case presentation, Journal of Surgical Case Reports, Volume 2022, Issue 9, September 2022, rjac403, <https://doi.org/10.1093/jscr/rjac403>
5. Бережная Н.М. Взаимодействие клеток системы иммунитета с другими компонентами микроокружения. Онкология. 2009;1(2):86-93.
6. Mantovani A. et al. Tumor immunity: effector response to tumor and role of the microenvironment. Lancet 2008;371(9614):771-83.
7. Тупицын Н.Н. Иммунофенотип рака молочной железы. В кн.: Рак молочной железы. Под ред. Н.Е. Кушлинского, С.М. Портного, К.П. Лактионова. М.: Издательство РАМН, 2005; 174-97 стр.
8. Balch C., Riley L., Bae T. et al. Patterns of human tumor infiltrating lymphocytes in 120 human cancers. Arch Surg 1990;125(2):200-205.
9. Galon J., Pages F. et al. Cancer classification using the immunoscore: a worldwide task force. J Transl Med 2012;10:205.

10. Zamarron B.F., Chen W. Dual roles of immune cells and their factors in cancer development and progression. *Int J Biol Sci.* 2011;7(5):651-658.
11. Ruffell B., DeNardo D.G., Affara N.I. et al. Lymphocytes in cancer development: polarization towards protumor immunity. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2010;21:3-10.
12. Shen Z., Zhou S., Wang Y. et al. Higher intratumoral infiltrated Foxp3+ Treg numbers and Foxp3+/CD8+ ratio are associated with adverse prognosis in resectable gastric cancer. *J Cancer Res Clin. Oncol.* 2010;136:1585-1595.
13. Zheng X., Song X., Shao Y. et al. Prognostic role of tumor-infiltrating lymphocytes in gastric cancer: A meta-analysis. *Oncotarget.* 2017;8/10.18632/oncotarget.18065.
14. He Q. et al. Impact of the immune cell population in peripheral blood on response and survival in patients receiving neoadjuvant chemotherapy for advanced gastric cancer / Q. He, G. Li, X. Ji et al. // *Tumor Biology.* 2017;39(5):e.101042831769757.
15. Заботина Т.Н. Особенности субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови и инфильтрирующих опухоль у больных плоскоклеточным раком головы и шеи / Т.Н. Заботина, А.И. Черткова, В.Т. Циклаури и др. // *Иммунология.* 2019;40(3):10-19.
16. Loi, S. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in a phase III randomized adjuvant breast cancer trial in node-positive breast cancer comparing the addition of docetaxel to doxorubicin with doxorubicin-based chemotherapy / S. Loi et al. // *J Clin Oncol.* 2013;31:860-7.
17. Murta, E.F. Lymphocyte subpopulations in patients with advanced breast cancer submitted to neoadjuvant chemotherapy / E.F. Murta, J.M. de Andrade et al. // *Tumori.* 2000;86(5):403-7.
18. Chang, W.C. Clinical significance of regulatory T cells and CD8+ effector populations in patients with human endometrial carcinoma / W.C. Chang, C.H. Li, S.C. Huang et al. // *Cancer.* 2010;116:5777-5788.
19. Gao Q. Intratumoral balance of regulatory and cytotoxic T cells is associated with prognosis of hepatocellular carcinoma after resection / Q. Gao, S.J. Qiu, J. Fan et al. // *J Clin Oncol.* 2007;25:2586-2593.
20. Ormandy, L.A. Increased populations of regulatory T-cells in peripheral blood of patients with hepatocellular carcinoma / L.A. Ormandy, T. Hillemann, H. Wedemeyer et al. // *Cancer Res.* 2005;65:2457-2464.

Поступила 20.02.2025