

EDN: DQANHH

DOI 10.56618/2071-2693_2023_15_4_200

УДК 616-006.484.04



ДИСФУНКЦИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ПАЦИЕНТОВ С ГЛИОБЛАСТОМОЙ. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ.

С. С. Скляр¹, Д. А. Ситовская¹, Ю. В. Миролюбова², В. С. Кушнирова¹,
Б. И. Сафаров¹, К. А. Самочерных¹

¹ Российский научно-исследовательский нейрохирургический институт им. проф. А. Л. Поленова
— филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова»
Минздрава РФ, ул. Маяковского 12, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 191014

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова»
Минздрава РФ, ул. Аккуратова, 2, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197341

РЕЗЮМЕ. Первые попытки применения иммунотерапии в лечении пациентов с глиобластомой оказались недостаточно успешными. Данную неудачу связывали с иммунологической привилегированностью головного мозга, такими особенностями самой опухоли, как низкой мутационная нагрузка и молекулярно-генетическая гетерогенность. Проведенные исследования за последние годы несколько прояснили особенности функционирования иммунной системы при глиобластоме. На сегодняшний день одним из ведущих факторов иммуносупрессии является системная лимфопения, причем не только ятрогенного характера, но и индуцированная самой опухолью. Нами представлен обзор по заданной теме с описанием трех клинических случаев с оценкой субпопуляции лимфоцитов в периферической крови и инфильтрации клетками иммунной системы в опухоли. Также представлены варианты иммунотерапии для данной группы пациентов с учетом особенностей функционирования иммунной системы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: глиобластома, лимфопения, Т-лимфоцит.

Для цитирования: Скляр С. С., Ситовская Д. А., Миролюбова Ю. В., Кушнирова В. С., Сафаров Б. И., Самочерных К. А. Дисфункция иммунной системы у пациентов с глиобластомой. Обзор литературы. Клинические наблюдения. Российский нейрохирургический журнал им. проф. А. Л. Поленова. 2023;15(4):200–208. DOI 10.56618/2071-2693_2023_15_4_200

IMMUNE SYSTEM DYSFUNCTION IN PATIENTS WITH GLIOBLASTOMA. LITERATURE REVIEW. CLINICAL CASES.

S.S. Sklyar¹, D.A. Sitovskaya¹, Iu. V. Mirolubova², V.S. Kushnirova¹, B.I. Safarov¹, K.A. Samochernykh¹

¹ Polenov Russian Neurosurgical Institute — the branch of Almazov National Medical Research Centre,
12, Mayakovskogo st., St. Petersburg, 191014, Russia,

² Almazov National Medical Research Centre, 2, Akkuratova st., St. Petersburg, 197341, Russia

ABSTRACT. The first attempts to use immunotherapy in the treatment of patients with glioblastoma were not successful enough. This failure was associated with the immunological privilege of the brain, such features of the tumor itself as low mutational load and genetic heterogeneity. Research conducted in recent years has clarified the features of the functioning of the immune system in the patients with glioblastoma. Today, one of the leading factors of immunosuppression is systemic lymphopenia, not only of an iatrogenic nature, but also induced by the tumor itself. We have presented a review on this topic with a description of three clinical cases with an assessment of the lymphocyte subpopulation in the peripheral blood and the infiltration of immune system cells into the tumor. Immunotherapy options for this group of patients are also presented, taking into account the particularities of the functioning of the immune system.

KEYWORDS: glioblastoma, lymphopenia, T-lymphocytes.

For citation: Sklyar S.S., Sitovskaya D.A., Mirolubova Iu.V., Kushnirova V.S., Safarov B.I., Samochernykh K.A. Immune system dysfunction in patients with glioblastoma. Literature review. Clinical cases. Rossiiskii neirokhirurgicheskii zhurnal imeni professora A. L. Polenova. 2023;15(4):200–208. DOI 10.56618/2071-2693_2023_15_4_200

Гипотеза о том, что иммунная система активно отслеживает возникающие опухолевые клетки и принимает участие в их элиминации, была выдвинута более ста лет назад [1, 2]. Последующие исследования подтвердили и значительно расширили наше представление об иммунологическом контроле [3–5], и на се-

годняшний день можно с уверенностью сказать, что онкологический процесс является заболеванием, проявляющимся в такой же степени неконтролируемой клеточной пролиферацией и миграцией опухолевых клеток, как и иммунологической дисфункцией.

Долгое время считалось, что центральная нерв-

ная система (ЦНС) является иммунологически привилегированной средой, то есть присутствие антигена (АГ) в данной области не приводит к активации иммунной системы. Однако, данная доктрина была разрушена. Благодаря проведенным фундаментальным исследованиям обнаружены функционирующие лимфатические сосуды в мозговых оболочках, описаны пути «выхода» АГ из головного мозга в глубокие шейные лимфатические узлы, определены фагоцитарные и антиген-презентирующие свойства микроглии, установлен факт инфильтрации активированными Т-лимфоцитами патологических очагов в паренхиме мозга, а также представлена лимфатическая система [6–10]. Таким образом, на сегодняшний день ЦНС рассматривается как иммунологически динамическая система, нежели привилегированная.

Данные научные достижения и факт иммунного контроля за опухолью подняли вопрос об особенностях функционирования иммунной системы при новообразованиях ЦНС и возможностях ее активирования. Наибольший интерес вызывает самая распространенная и злокачественная внутримозговая опухоль ЦНС — глиобластома. Быстрое прогрессирование и низкие показатели выживаемости даже при проведении стандартного комплексного лечения пациентов с данной патологией диктуют необходимость поиска новых эффективных методов лечения [11–15]. Однако, несмотря на факт активации иммунной системы при присутствии АГ в паренхиме мозга, клинические испытания применения иммунотерапии чек-пойнт ингибиторами в моно-режиме продемонстрировали неоднозначные результаты [6, 16, 17].

Глиобластома была признана иммунологически холодной опухолью, что подразумевает под собой низкий уровень инфильтрации активированными клетками иммунной системы [18]. Однозначного объяснения данному феномену нет. Ряд исследователей связывают низкую инфильтрацию Т-лимфоцитами глиобластомы с высокой экспрессией опухолевыми клетками лигандов к ингибирующим рецепторам активированных клеток иммунной системы [19, 20]. В других фундаментальных работах данный факт объясняется созданием иммуносупрессивной среды за счет привлечения в микроокружение опухоли клеток иммунной системы, подавляющих активность Т-лимфоцитов [21, 22].

Однако, возможно дисфункция Т-лимфоцитов связана со системным снижением их количества в связи с терапией препаратом дексаметазон, активно используемым для уменьшения отека головного мозга, или специфическим противоопухолевым лечением. Изучение данного вопроса позволит не только расширить понимание о патофизиологии глиобластомы, но и поможет определиться с наиболее подходящими методами иммунотерапии при самой злокачественной опухоли ЦНС.

Материалы и методы.

Исследование проводилось на базе нейрохирургического отделения № 4 Российского Нейрохирургического Института имени проф. А. Л. Поленова — филиала ФГБУ НМИЦ имени В. А. Алмазова с привлечением патологоанатомического отделения и центральной клинко-диагностической лаборатории ФГБУ НМИЦ имени В. А. Алмазова. Исследование основано на анализе субпопуляций лимфоцитов в периферической крови, а также оценке инфильтрации опухоли активированными лимфоцитами.

В исследование включены три пациента, мужчины, в возрасте старше 18 лет с глиобластомой супратенториальной локализации. Всеми пациентами подписано информированное согласие на участие в данном исследовании. Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией о правах человека. Гистологическое заключение сформулировано в соответствии с классификацией ВОЗ опухолей ЦНС 2021 года [11]. Стоит отметить, что двое пациентов находились на этапе первичного нейрохирургического удаления опухоли. Пациенту № 3 было планово проведено субтотальное удаление опухоли, курс лучевой терапии (60 Гр) с ежедневным приемом темозоломида 75 мг/м², и на момент включения в исследования больной получал 3-ий цикл химиотерапевтического лечения по стандартной схеме темозоломид 150–200 мг/м² Д1–5 цикл 28 дней со стабилизацией по данным контрольной магнитно-резонансной томографии головного мозга с контрастным усилением, выполненной в конце 2 цикла химиотерапии. Дополнительно учитывалось получали ли пациенты на этапе сдачи крови симптоматическую терапию дексаметазоном. Клинические и демографические характеристики исследуемой группы представлены в таблице 1.

Таблица 1. Клинические и демографические характеристики пациентов с глиобластомой.

Table 1. Clinical and demographics characteristics of patients with glioblastoma.

пациент	возраст	пол	этап лечения	назначение дексаметазона до взятия образца крови	количество дней терапии дексаметазоном
№ 1	76	м	ХЛ	да	14
№ 2	63	м	ХЛ	нет	-
№ 3	63	м	ХТ	нет	-

Примечание: м — мужчина, ж — женщина, ХЛ — хирургическое лечение, ХТ — химиотерапия.

Исследован биопсийный материал. Фрагменты опухоли фиксировали в 10 % забуференном формалине, обезжизняли стандартным способом и заливали в парафин. Гистологические срезы, окрашенные гематоксилином и эозином, а также результаты иммуногистохимических (ИГХ) реакций с антителами к GFAP, IDH1r132h и маркеру пролиферативной активности изучались у пациентов № 1 и № 2, к CD45, CD3, CD4, CD8, CD20 исследованы у пациента № 1 (антитела фирмы Dako (США), система визуализации EnVision). Гистологический анализ и микрофотографирование проводилось с помощью микроскопа Leica DM2500 M, оборудованного цифровой камерой DFC320 и с использованием менеджера изображений IM50 (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany). Была проведена оценка инфильтрации лимфоцитами в опухоли и перифокальной зоне (при наличии) с использованием полуколичественного метода: 0 — окрашивание отсутствует, 1+ — единичные клетки в 1 мм² ткани, 2+ — 10–20 клеток окрашено в 1 мм², 3+ — >30 клеток окрашено в 1 мм². Данные представлены в формате среднего и стандартного отклонения.

Субпопуляции лимфоцитов оценивали в образце венозной крови. У пациентов, находящихся на этапе первичного хирургического лечения, анализ проводился за сутки до проведения операции. У пациента, получающего химиотерапию, забор крови проводился до начала специфического противоопухолевого лечения, на 28 день цикла.

Основные субпопуляции лимфоцитов определяли количественным методом проточной цитометрии на анализаторе BD FACS Aria (производство Becton Dickinson, США). Стандартная панель на субпопуляции лимфоцитов включала моноклональные антитела к CD45, CD3, CD4, CD8, CD19, CD16, CD56 (производство Becton Dickinson, США). Определялось общее количество лимфоцитов, включая Т-лимфоциты (CD3+/CD45+), Т-цитотоксические лимфоциты (CD3+CD8+/CD45+), Т-хелперы (CD3+CD4+/CD45+), NK-лимфоциты (CD3-CD16+CD56+/CD45+), В-лимфоциты (CD19+/CD45+). Полученные результаты сопоставлялись с референсными значениями и данными научной литературы.

Результаты. Результаты лабораторных анализов представлены в таблице 2.

Учитывая полученные результаты и особенности лечения каждого пациента, представляется целесообразным рассмотреть каждый случай в отдельности. У первого пациента, находящегося на предоперационном этапе и получающего дексаметазон, была зарегистрирована лимфопения (1130 кл/мкл), при этом показатель Т-хелперов в периферической крови был ниже порогового уровня, и соотношение CD4+/CD8+ оказалось ниже референсных значений (354 кл/мкл).

Второй клинический случай примечателен тем, что пациент перед проведением нейрохирургического лечения, на этапе забора крови и до этого не получал дексаметазон. В данном клиническом случае общее количество лимфоцитов в периферической крови приближается к нижнему пороговому значению (1354 кл/мкл), при этом количественные показатели всех субпопуляций были в пределах референсных показателей. Однако, соотношение CD4+/CD8+ на нижнем пороговом уровне за счет относительно невысокого показателя Т-хелперов (603 кл/мкл).

В результатах анализа третьего пациента, находящегося на этапе химиотерапевтического лечения, отмечено, что уровень лимфоцитов, включая Т-хелперы, Т-цитотоксические лимфоциты, был выше, по сравнению с пациентами на дооперационном уровне, при этом соотношение CD4+/CD8+ было ниже референсного показателя.

У двух пациентов, которым проводилось хирургическое удаление опухоли, дополнительно к стандартному ИГХ исследованию, оценивалась инфильтрация лимфоцитами опухоли и перифокальной зоны. Результаты представлены на рисунках 1–3.

Случай № 1.

При гистологическом исследовании операционного материала пациента № 1 76 лет (рис. 1) верифицирована глиобластома IDH-wildtype: обнаружена высокозлокачественная глиальная опухоль GFAP+ с диффузным типом роста и высокой пролиферативной активностью с уровнем ядерного мечения маркером Ki67/MIB1 15–18 %. Окрашивание антителом к IDH1r132h было негативным. В центральной и перифокальной зонах опухоли обнаружена периваскулярная и стромальная лимфоцитарная инфильтрация, 2+.

Таблица 2. Основные субпопуляции лимфоцитов в периферической крови пациентов с глиобластомой.

Table 2. The main subpopulations of lymphocytes in the peripheral blood of patients with glioblastoma.

пациент	лимфоциты	Т-лимф. (CD3+/CD45+)	Т-цитотокс. (CD3+CD8+/CD45+)	Т-хелперы (CD3+CD4+/CD45+)	В-лимф. (CD19/CD45+)	соотношение CD4+/CD8+	NK-лимфоциты
	кл/мкл	кл/мкл	кл/мкл	кл/мкл	кл/мкл		кл/мкл
№ 1	1130	789	414	354	155	0,8	177
№ 2	1354	1002	372	603	176	1,6	135
№ 3	1812	1395	706	616	163	0,87	217
референс	1320–3570	690–2540	190–1140	410–1590	90–660	1,5–2,60	90–590

Примечание: Т-лимф. — Т-лимфоцит, Т-цитотокс. — Т-цитотоксический лимфоцит, В-лимф. — В-лимфоцит, ед.из. — единица измерения, кл/мкл — клеток на микролитр.

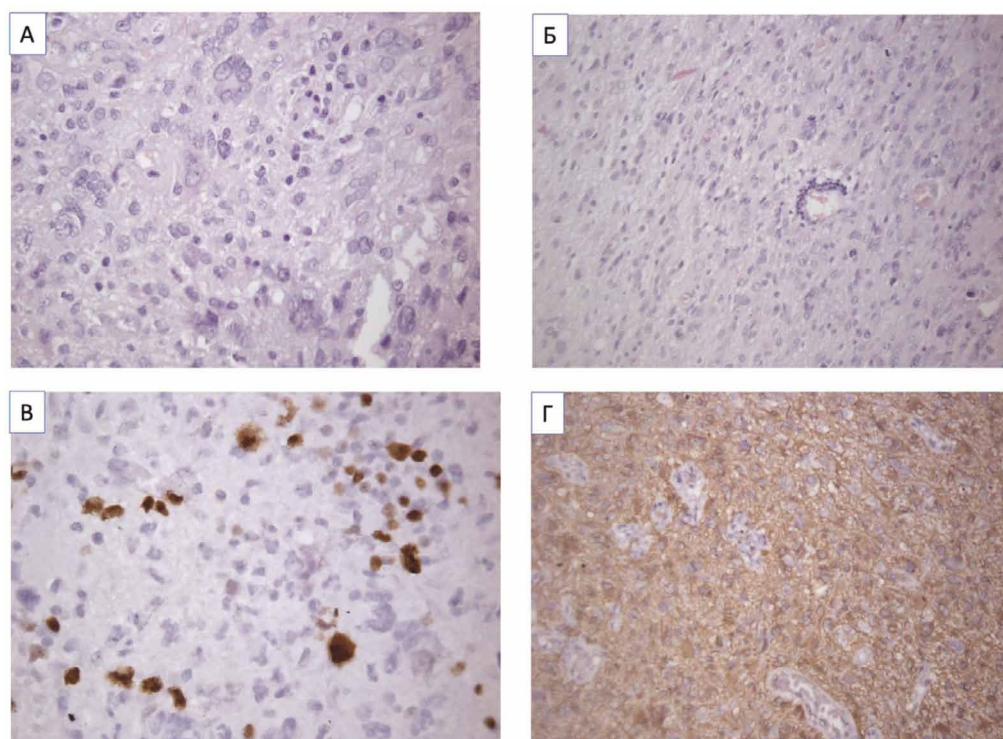


Рисунок 1. Результаты гистологического исследования пациента № 1, 75 лет.

Окраска гематоксилином и эозином, А — $\times 400$, Б — $\times 200$.

А — Злокачественная глиальная опухоль с клеточным полиморфизмом. Лимфоцитарная инфильтрация стромы опухоли немногочисленными лимфоцитами, 2+

Б — Перифокальная зона опухоли, прилежащая к неизменённой ткани мозга. Периваскулярная лимфоцитарная инфильтрация, 2+

В — Уровень пролиферативной активности по Ki67 15–18 %, $\times 400$

Г — Диффузное цитоплазматическое окрашивание антителами к GFAP, $\times 200$

Figure 1. Results of histological examination of patient № 1, 75 years old.

Staining with hematoxylin and eosin, А — $\times 400$, Б — $\times 200$.

А — Malignant glial tumor with cellular polymorphism. Lymphocytic infiltration of the tumor stroma with a few lymphocytes, 2+

Б — Perifocal zone of the tumor adjacent to unchanged brain tissue. Perivascular lymphocytic infiltration, 2+

В — Level of proliferative activity by Ki67 15–18 %, $\times 400$

Г — Diffuse cytoplasmic staining with antibodies to GFAP, $\times 200$

При ИГХ исследовании кластеров дифференцировки лимфоцитов у пациента № 1 выявлено окрашивание маркером CD45 многочисленных лимфоцитов стромы в центре опухоли (рис. 2А), периваскулярных лимфоцитов в перифокальной зоне (рис. 2Б), а также активация микроглии во всех исследованных областях (рис. 2В). Количество лимфоцитов в 1 мм² ткани составило $20,7 \pm 3,8$ клеток. Окрашивание лимфоцитов маркером CD20 не обнаружено. Выявлено позитивное окрашивание лимфоцитов ткани опухоли маркером CD3, колокализованное с окрашиванием CD45 (рис. 2 Г-Д), однако, маркер CD3 не окрашивал микроглию. Количество CD3+ лимфоцитов в 1 мм² ткани центра опухоли составило $20,7 \pm 3,8$ клеток, перифокальной зоны — $25,2 \pm 4,4$ клеток. При окрашивании опухоли маркером CD4 (рис. 2 Е-Ж) выявлено окрашивание части лимфоцитов, колокализованное с CD3+ клетками. Также выявлено окрашивание маркером CD4 микроглии, усиливающееся в перифокальной зоне опухоли. Количество CD4+ лимфоцитов в 1 мм² ткани центра опухоли — $7,7 \pm 3$ клеток, что со-

ставляет 37,2 % от всего пула Т-лимфоцитов. Количество CD4+ лимфоцитов в 1 мм² ткани перифокальных отделов опухоли — $8,3 \pm 1,8$ клеток, что составляет 32,9 % от всего пула Т-лимфоцитов. При окрашивании опухоли маркером CD8 (рис. 2 И-К) выявлено окрашивание части лимфоцитов, колокализованное с CD3+ клетками. Количество CD8+ лимфоцитов в 1 мм² ткани центра опухоли — $18 \pm 3,2$ клеток, что составляет 86,9 % от всего пула Т-лимфоцитов. Количество CD8+ лимфоцитов в 1 мм² ткани перифокальной зоны опухоли — $10,2 \pm 2,6$ клеток, что составляет 40,5 % от всего пула Т-лимфоцитов.

Случай № 2.

При гистологическом исследовании биопсийного материала пациента № 2, 63 г. верифицирована глиобластома. Обнаружена диффузная лимфоцитарная инфильтрация стромы опухоли, составившая в 1 мм² ткани $43,8 \pm 6,2$ клеток (рис. 3). Лимфоциты представлены клетками разной степени зрелости — от лимфобластов до зрелых клеток, также обнаружены единичные плазмоциты.

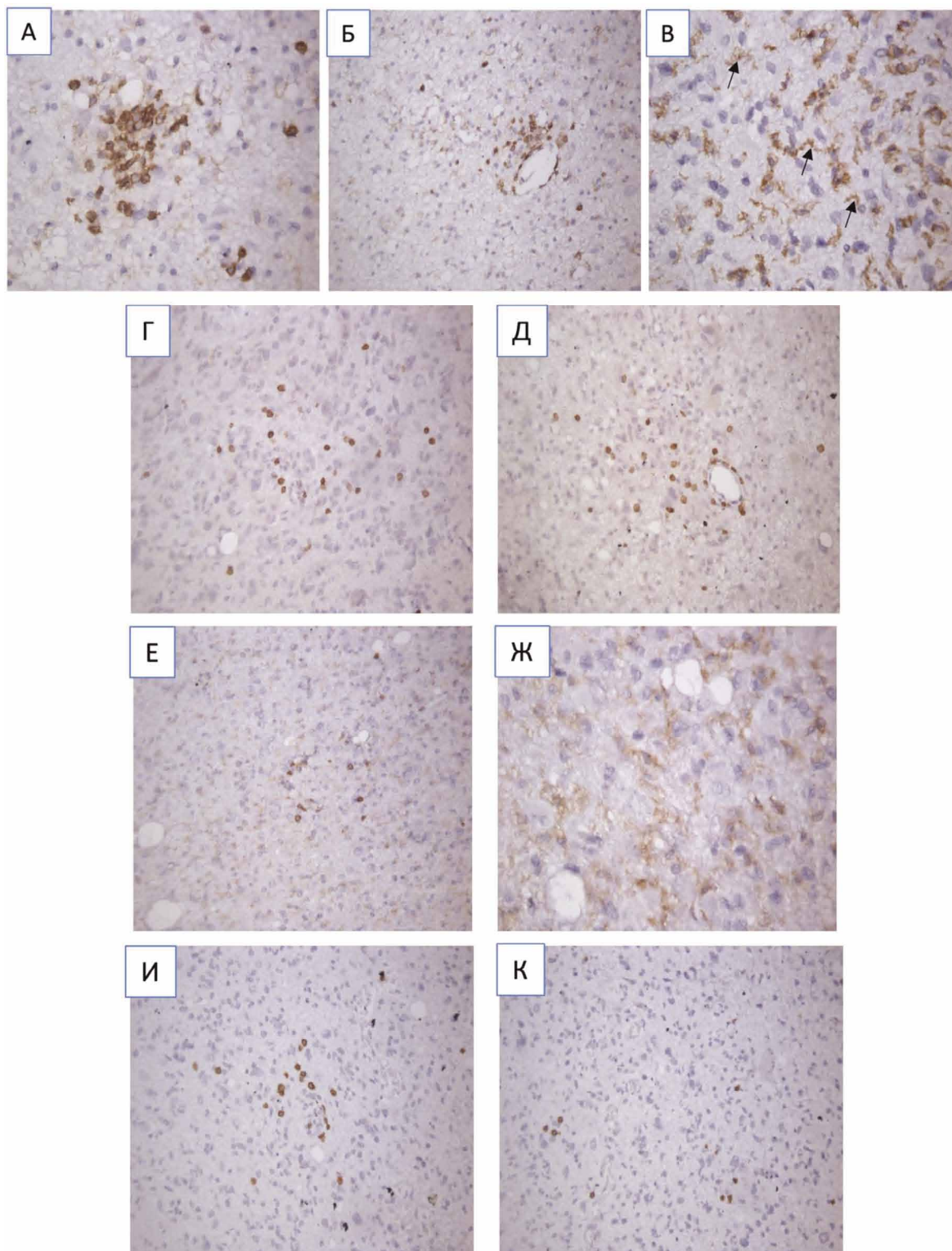


Рисунок 2. Результаты ИГХ типирования лимфоцитов пациента № 1.

А — ИГХ с антителами к CD45 в центральной части опухоли, $\times 400$

Б — ИГХ с антителами к CD45 в перифокальных отделах опухоли, $\times 200$

В — ИГХ с антителами к CD45 в центральной части опухоли, окрашивание микроглии указано стрелкой, $\times 400$

Г — ИГХ с антителами к CD3 в центральной части опухоли, $\times 200$

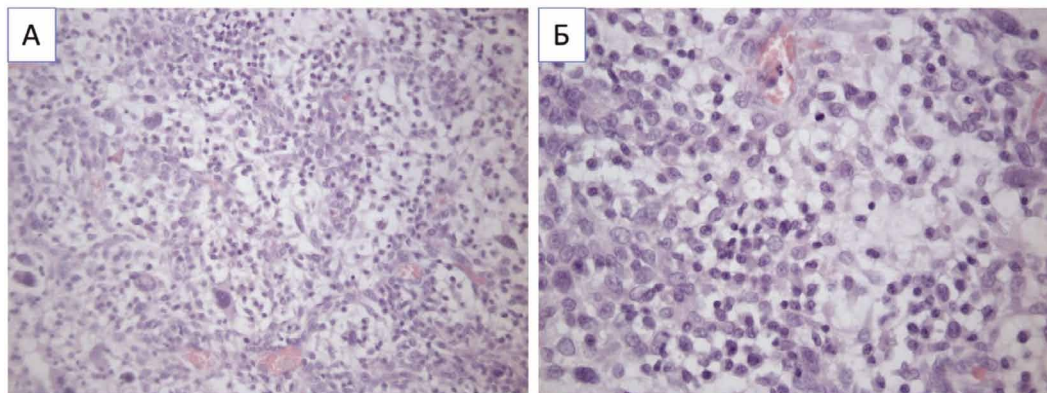
Д — ИГХ с антителами к CD3 в перифокальных отделах опухоли, $\times 200$

Е — ИГХ с антителами к CD4 в центральной части опухоли, $\times 200$

Ж — ИГХ с антителами к CD4 в перифокальных отделах опухоли, $\times 400$

И — ИГХ с антителами к CD8 в центральной части опухоли, $\times 200$

К — ИГХ с антителами к CD8 в перифокальных отделах опухоли, $\times 200$

Figure 2. Results of IHC typing of lymphocytes of the patient № 1.**A** — IHC by antibodies to CD45 in the central part of the tumor, $\times 400$ **Б** — IHC by antibodies to CD45 in the perifocal parts of the tumor, $\times 200$ **В** — IHC by antibodies to CD45 in the central part of the tumor, microglia staining is indicated by an arrow, $\times 400$ **Г** — IHC by antibodies to CD3 in the central part of the tumor, $\times 200$ **Д** — IHC by antibodies to CD3 in the perifocal parts of the tumor, $\times 200$ **Е** — IHC by antibodies to CD4 in the central part of the tumor, $\times 200$ **Ж** — IHC by antibodies to CD4 in the perifocal parts of the tumor, $\times 400$ **И** — IHC by antibodies to CD8 in the central part of the tumor, $\times 200$ **К** — IHC by antibodies to CD8 in the perifocal parts of the tumor, $\times 200$ **Рисунок 3. Результаты гистологического исследования пациента № 2, 63 г.**Окраска гематоксилином и эозином, А — $\times 200$, Б — $\times 400$.**А** — Обильная лимфоцитарная инфильтрация стромы опухоли, 3+.**Б** — Многочисленные лимфоциты разной степени зрелости, единичные плазмocyты, 3+.**Figure 3. Results of histological examination of patient № 2, 63 years old.**Staining with hematoxylin and eosin, A — $\times 200$, B — $\times 400$.**A** — Abundant lymphocytic infiltration of the tumor stroma, 3+.**B** — Numerous lymphocytes of varying degrees of maturity, single plasmacytes, 3+.

Таким образом, у пациента № 2 имеет место большее количество лимфоцитов как в периферической крови, так и в ткани опухоли при сравнении с пациентом № 1. У пациента № 3 имеет место большее количество лимфоцитов в периферической крови при сопоставлении с пациентами № 1 и № 2, однако, ткань опухоли получена не была.

Обсуждение

Неопровержим тот факт, что адаптивная иммунная система может распознавать опухолевые клетки и играет основную роль в элиминации и предотвращения развития новообразований. Особое значение в иммунном контроле имеют Т-лимфоциты, а именно Т-хелперы (CD3+CD4+/CD45+) и Т-цитотоксические клетки CD3+CD8+/CD45+) [1–3, 23]. Главной функцией Т-хелперов является стимуляция адаптивного иммунного ответа. Встреча с дендритной клеткой, несущей информацию об опухолевом антигене, активирует наивный Т-хелпер, который посредством выделения различных цитокинов и при прямом контакте стимулирует эффекторные клетки иммунной системы. Целью Т-цитотоксических лимфоцитов являются злокачественные клетки, и главная задача — уничтожение их. Стоит отметить, что после активации адаптивного иммунного ответа образуется субпопуляция Т-клеток памяти, которые готовы элиминировать антиген при повторной встрече с ним.

Функционирование и роль субпопуляций лимфоцитов в иммунном контроле уже описаны при таких онкологических патологиях как лейкоз, рак желудка, колоректальные злокачественные новообразования и рак легкого [24–27]. На сегодняшний день проводится большое количество исследований, направленных на улучшение иммунного ответа с формированием новых подходов в лечении пациентов с данными патологиями [28].

Изучение иммунного статуса пациентов со злокачественными глиомами ЦНС, в частности с глиобластомой, приобретает особую актуальность. Впервые низкий уровень Т-лимфоцитов в крови у больных с внутримозговыми астроцитомами был зарегистрирован в 1977 году [29]. Последующие исследования подтвердили дисфункцию Т-лимфоцитов у пациентов с глиобластомами [30–32], при этом было отмечено, что в 42 % случаев данное состояние иммунной системы было исходно при постановке диагноза и не связано со специфическим противоопухолевым лечением [32]. В данных работах лимфопения определялась, как количество Т-лимфоцитов менее 1500 кл/мкл. При этом авторы продемонстрировали, что снижение уровня Т-лимфоцитов наиболее часто происходит за счет субпопуляции Т-хелперов. У представленного в нашем исследовании пациента № 1, находящегося на этапе хирургического лече-

ния, общее количество лимфоцитов было ниже порогового значения (1130 кл/мкл), в частности за счет низкого уровня Т-хелперов (354 кл/мкл). Во втором клиническом случае, также до проведения специфической противоопухолевой терапии, общее количество Т-лимфоцитов составило 1354 кл/мкл, что по данным приведенного исследования ниже пороговой нормы. Существует предположение, что при внутримозговых новообразованиях Т-клетки секвестрируются в костном мозге [33]. В одном исследовании продемонстрировано, что у пациентов с глиобластомами, не получавших специфического противоопухолевого лечения, в аспиратах костного мозга значительное число Т-клеток, как Т-хелперов, так и Т-цитотоксических лимфоцитов, по сравнению с их количеством в крови. При этом в контрольной здоровой группе уровни Т-лимфоцитов в крови и костном мозге были на одном уровне. Механизм изоляции клеток иммунной системы в костном мозге связывают со снижением экспрессии белка S1P1 (сфингозин-1-фосфатный рецептор 1) на поверхности Т-лимфоцитов. Почему только внутричерепные опухоли вызывают этот дефект в работе иммунной системы, и с помощью какого механизма он реализуется, еще предстоит узнать.

На сегодняшний день в научном медицинском сообществе продолжают споры о влиянии глюкокортикостероидов на системный иммунитет. В ряде исследований не связывают лимфопению с назначением дексаметазона [6, 32], в других работах зарегистрирована корреляционная зависимость [34, 35]. Стоит отметить, что пациент № 1 получал симптоматическую терапию дексаметазоном, в отличие от пациента № 2, и в первом случае уровень Т-лимфоцитов был ниже. Также инфильтрация Т-лимфоцитами опухоли в гистологическом материале была значительно ниже у первого пациента, по сравнению со вторым клиническим случаем, где не назначался дексаметазон. Проведенные исследования указывают на то, что наиболее чувствительной к глюкокортикостероидам субпопуляцией являются Т-наивные лимфоциты. Назначение дексаметазона сопровождалось увеличением на поверхности этих клеток CTLA-4 (цитотоксический Т-лимфоцитарно-ассоциированный белок-4), что приводило к блокировке клеточного цикла и дифференцировки [35].

Несомненно, системная лимфопения влияет и на местный иммунный ответ. Согласно научным исследованиям, что подтвердилось и в представленном нами клиническом случае № 1, инфильтрация глиобластомы Т-лимфоцитами очень слабая. Помимо системного снижения лимфоцитов, были обнаружены и ряд других механизмов ускользания глиобластомы от иммунного контроля. Попадая, в микроокружение опухоли, немногочисленные эффекторные Т-клетки сталкиваются с иммуносупрессивной средой, созданной глиобластомой [6]. Подавление Т-лимфоцитов происходит посредством экспрессии опухолевыми клетками и опухоль-ассоциированными макрофага-

ми белков, блокирующих функционирование эффекторных клеток иммунной системы. Привлеченные глиобластомой миелоидные клетки синтезируют ферменты, расщепляющие питательные вещества для Т-лимфоцитов. Таким образом, инфильтрирующие глиобластома лимфоциты представляют немногочисленную популяцию истощенных иммунных клеток. При этом, у пациента № 2 лимфоцитарная инфильтрация стромы опухоли была обильной, что не позволяет в данном случае назвать опухоль иммунологически холодной.

Эффект темозоломида, как любого цитостатического препарата, распространяется не только на опухолевые клетки, но и на клетки кроветворной системы. Ряд исследований подтверждают снижение уровня Т-лимфоцитов на фоне терапии темозоломидом. При детальном изучении данного вопроса оказывается, что эффект на иммунный противоопухолевый ответ данного препарата может быть разнонаправленным [36, 37]. Стоит отметить, что основная роль темозоломида — апоптоз клеток глиобластомы, приводит к выделению большого количества антигенов, что является стимулом для адаптивной иммунной системы. Механизм действия, данного препарата сопряжен с образованием новых мутаций в опухолевой клетке, а это в свою очередь увеличивает мутационную нагрузку, что делает глиому «видимой» для иммунной системы. Лимфопения, вызванная темозоломидом, приводит к уничтожению Т-клеток памяти, толерантных к антигенам опухоли, индуцируя более сильный новый иммунный ответ. Уровень Т-лимфоцитов, в том числе Т-цитотоксических, у представленного нами пациента, получающего ХТ темозоломидом, был выше, чем в двух других клинических случаях, находящихся на дооперационном уровне. Также стоит подчеркнуть, что забор крови проводился до назначения очередного цикла противоопухолевого лечения.

Благодаря проведенным исследованиям наше представление об иммунном статусе пациентов с глиобластомами значительно расширилось. Несомненно, системная лимфопения является одной из ведущих проблем в реализации адекватного иммунного ответа на данные новообразования. Разработка таких методов лечения для пациентов с глиобластомами как CAR T-терапия (терапия Т-лимфоцитами с химерными антигенными рецепторами) может стать достойным решением данной проблемы. Также, стоит принять во внимание и действие на лимфоциты глюкокортикостероидов. Ряд зарубежных специалистов предлагают отказываться от этих препаратов в пользу бевацизумаба для реализации противоотечного эффекта [38]. Необходимо учитывать и особенности локального иммунного надзора за глиобластомой. Принимая во внимание большое разнообразие механизмов местной иммуносупрессии данной опухоли, целесообразным представляется разрабатывать различные комбинации иммунотерапии, направленные на увеличение количества Т-клеток и их активацию. Также стоит,

рассматривая назначение чек-поинт ингибиторов, учитывать лимфоцитарную инфильтрацию стромы опухоли у каждого конкретного пациента.

Учитывая полученные результаты фундаментальных исследований, проведенных за последнее десятилетие, в ближайшее время ожидается большое количество доклинических и клинических работ, направленных на разработку новых иммунотерапевтических подходов в лечении самой злокачественной и распространенной опухоли ЦНС, глиобластоме, что может поменять прогноз для наших пациентов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. **Conflict of interest.** The author declares no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки. **Financing.** The study was performed without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics. All patients gave written informed consent to participate in the study.

ORCID авторов / ORCID of authors

Скляр Софья Сергеевна/

Sklyar Sofia Sergeevna

ORCID 0000-0002-3284-9688

Ситовская Дарья Александровна/

Sitovskaya Daria Alexandrovna

ORCID 0000-0001-9721-3827

Миролюбова Юлия Владимировна/

Mirolyubova Iulia Vladimirovna

ORCID 0000-0001-5776-7809

Куширова Виктория Сергеевна/

Kushnirova Victoria Sergeevna

ORCID ID: 0000-0003-0480-0884

Сафаров Бобир Ибрагимович/

Safarov Bobir Ibragimovich

ORCID ID: 0000-0002-2369-7424

Самочерных Константин Александрович/

Samochernykh Konstantin Aleksandrovich

ORCID ID: 0000-0003-0350-0249

Литература/References

1. Abbot M., Ustoyev Y. Cancer and the Immune System: The History and Background of Immunotherapy. *Semin Oncol Nurs.* 2019;35(5):150923. doi: 10.1016/j.soncn.2019.08.002.
2. Blair G. E., Cook G. P. Cancer and the immune system: an overview. *Oncogene.* 2008;27(45):5868. doi: 10.1038/ncr.2008.277.
3. Dunn G. P., Old L. J., Schreiber R. D. The three Es of cancer immunoeediting. *Annu Rev Immunol.* 2004;22:329–60. doi: 10.1146/annurev.immunol.22.012703.104803.
4. Chen D. S., Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity.* 2013;39(1):1–10. doi: 10.1016/j.immuni.2013.07.012.
5. Topalian S., Hodi F. S., Brahmer J. R., Gettinger S. N., Smith D. C., McDermott D. F., Powderly J. D., Carvajal R. D., Sosman J. A., Atkins M. B., Leming P. D., Spigel D. R., Antonia S. J., Horn L., Drake C. G., Pardoll D. M., Chen L., Sharfman W. H., Anders R. A., Taube J. M., McMiller T. L., Xu H., Korman A. J., Jure-Kunkel M., Sznol M. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med.* 2012;366(26):2443–54. doi: 10.1056/NEJMoa1200690.
6. Скляр С. С., Трашков А. П., Мацко М. В., Сафаров Б. И., Васильев А. Г. Иммунный ответ на первичную глиобластому. *Педиатр.* 2022;13(2):49–60. doi: 10.17816/PED.13249–60. [Sklyar S. S., Trashkov A. P., Matsko M. V., Safarov B. I., Vasiliev A. G. Immune response to primary glioblastoma. *Pediatrician.* 2022;13(2):49–60. (In Russ.). doi: 10.17816/PED.13249–60.]
7. Aspelund A., Antila S., Proulx S. T., Karlsten T. V., Karaman S., Detmar M., Wiig H., Alitalo K. A dural lymphatic vascular system that drains brain interstitial fluid and macromolecules. *J. Exp. Med.* 2015;212:991–999. doi: 10.1084/jem.20142290.
8. Louveau A., Smirnov I., Keyes T. J., Eccles J. D., Rouhani S. J., Peske J. D., Derecki N. C., Castle D., Mandell J. W., Lee K. S. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature.* 2015;523:337–341. doi: 10.1038/nature14432.
9. Majc B., Novak M., Kopitar-Jerala N., Jewett A., Breznik B. Immunotherapy of Glioblastoma: Current Strategies and Challenges in Tumor Model Development. *Cells.* 2021;10(265):2–22. doi: 10.3390/cells10020265.
10. Кондратьев А. Н., Ценципер Л. М. Глимфатическая система мозга: строение и практическая значимость. *Анестезиология и реаниматология.* 2019;6: 72–80. doi: 10.17116/anaesthesiology201906172. [Kondratyev A. N., Tsentsiper L. M. Glymphatic system of the brain: structure and practical significance. *Russian Journal of Anaesthesiology and Reanimatology. Anesteziologiya i Reanimatologiya.* 2019;6:72–80. (In Russ.). doi: 10.17116/anaesthesiology201906172.]
11. Brat D. J., Ellison D. W., Figarella-Branger D., Hawkins C. E., Louis D. N. et al. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Central nervous system tumours. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer. WHO Classification of Tumours Series, 5th ed.; 2021; vol. 2.
12. Ostom Q. T., Price M., Neff C., Cioffi G., Waite K. A., Kruchko C., Barnholtz-Sloan J. S. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2015–2019. *Neuro Oncol.* 2022;24:1–95. doi: 10.1093/neuonc/noac202.
13. Мацко М. В., Скляр С. С., Улитин А. Ю., Мацко Д. Е., Имянитов Е. Н., Иевлева А. Г., Ни В. И., Волков Н. М., Зрелов А. А., Бакшеева А. О., Галкина Д. В. Изменение уровня экспрессии гена MGMT у пациентов с первичной глиобластомой после рецидива. Влияние клинических характеристик и экспрессии гена MGMT на продолжительность жизни больных. *Сибирский онкологический журнал.* 2021;20(3):5–17. doi: 10.21294/1814-4861-2021-20-3-5-17. [Matsko M. V., Sklyar S. S., Ulitin A. Yu., Matsko D. E., Imyaninov E. N., Ievleva A. G., Ni V. I., Volkov N. M., Zrellov A. A., Baksheeva A. O., Galkina D. V. Changes in the MGMT gene expression in patients with primary glioblastoma after relapse. Influence of clinical characteristics and MGMT expression on survival of patients. *Siberian Journal of Oncology.* 2021;20(3): 5–17. (In Russ.). doi: 10.21294/1814-4861-2021-20-3–5–17.]

14. Нечаева А. С., Куканов К. К. Достижения и перспективы дальнейшего развития дендритно-клеточной вакцинотерапии пациентов со злокачественными глиальными опухолями. Российский журнал персонализированной медицины. 2023;3(3):79–90. doi: 10.18705/2782-3806-2023-3-3-79-90. [Nechaeva A. S., Kukanov K. K. Achievements and prospects in dendritic cell vaccine therapy in patients with malignant glial tumors. Russian Journal for Personalized Medicine. 2023;3(3):79–90. (In Russ.) doi: 10.18705/2782-3806-2023-3-3-79-90.]
15. Назаралиева Э. Т., Федоров В. С., Забродская Ю. М., Ким А. В., Джаналиев Б. Р., Шевцов М. А., Самочерных К. А. Белки теплового шока в качестве диагностических и прогностических маркеров при злокачественных опухолях центральной нервной системы. Трансляционная медицина. 2022;9(6):5–15. doi: 10.18705/2311-4495-2022-9-6-5-15. [Nazaralieva E. T., Fedorov V. S., Zabrodskaya Yu. M., Kim A. V., Djanaliev B. R., Shevtsov M. A., Samochernych K. A. Heat shock proteins as diagnostic and prognostic markers in malignant tumors of the central nervous system. Translational Medicine. 2022;9(6):5–15. (In Russ.) doi: 10.18705/2311-4495-2022-9-6-5-15.]
16. Filley A. C., Henriquez M., Dey M. Recurrent glioma clinical trial, checkmate-143: the game is not over yet. Oncotarget. 2017;8(53):91779–91794. doi: 10.18632/oncotarget.21586.
17. Omuro A., Vlahovic G., Lim M., Sahebjam S., Baehring J., Cloughesy T. Nivolumab with or without ipilimumab in patients with recurrent glioblastoma: results from exploratory phase I cohorts of checkmate 143. Neuro-Oncology. 2018;20(5):674–686. doi: 10.1093/neuonc/nox208.
18. Jackson C. M., Choi J., Lim M. Mechanisms of immunotherapy resistance: lessons from glioblastoma. Nature Immunology. 2019;20(9):1100–1109. doi: 10.1038/s41590-019-0433-y.
19. Berghoff A. S., Kiesel B., Widhalm G., Rajky O., Ricken G., Wohrer A. Programmed death ligand 1 expression and tumor-infiltrating lymphocytes in glioblastoma. Neuro-Oncology. 2015;17:1064–1075. doi: 10.1093/neuonc/nou307.
20. Nduom E. K., Wei J., Yaghi N. K., Huang N., Kong L. Y., Gabrusiewicz K. PD-L1 expression and prognostic impact in glioblastoma. Neuro-Oncology. 2016; 18(2):195–205. doi: 10.1093/neuonc/nov172.
21. Laviron M., Boissonnas A. Ontogeny of Tumor-Associated macrophages. Frontiers in Immunology. Front Immunol. 2019;31;10:1799. doi: 10.3389/fimmu.2019.01799.
22. Majc B., Novak M., Kopitar-Jerala N., Jewett A., Breznik B. Immunotherapy of Glioblastoma: Current Strategies and Challenges in Tumor Model Development. Cells. 2021;10(265):2–22. doi: 10.3390/cells10020265.
23. Li F., Li C., Cai X., Xie Z., Zhou L., Chaeng B., Zhong R., Xiong S., Li J., Chen Z., Yu Z., He J., Liang W. The association between CD 8+ tumor-infiltrating lymphocytes and the clinical outcome of cancer immunotherapy: A systematic review and meta-analysis. EClinicalMedicine. 2021;41:101134. doi: 10.1016/j.eclim.2021.101134.
24. Четверяков А. В., Терешков П. П., Цепелев В. Л., Крюкова В. В. Количественный состав субпопуляций цитотоксической Т-лимфоцитов у пациентов с опухолью толстой кишки. Современные проблемы науки и образования. 2023;3. doi: 10.17513/spno.32682. [Chetveryakov A. V., Tereshkov P. P., Tsepelev V. L., Kryukova V. V. Cytotoxic T-lymphocyte subpopulations content in patients with colon tumor. Modern Problems of Science and Education. 2023;3. (In Russ.) doi: 10.17513/spno.32682.]
25. Jin K., Cao Y., Gu Y. Poor clinical outcomes and immunoevasive contexture in CXCL13+CD8+ T-cells enriched gastric cancer patients. Oncoimmunology. 2021;10 (1):1915560. doi: 10.1080/2162402X.2021.1915560.
26. Radpour R., Riether C., Simillion C. CD8+ T cells expand stem and progenitor cells in favorable but not adverse risk acute myeloid leukemia. Leukemia. 2019;33(10):2379–2392. doi: 10.1038/s41375-019-0441-9.
27. Wang W. J. Variation of blood T lymphocyte subgroups in patients with non-small cell lung cancer. Asian Pacific journal of cancer prevention. 2013;14(8): 4671–4673. doi: 10.7314/APJCP.2013.14.8.4671.
28. Семиглазов В. Ф., Целуйко А. И., Балдуева И. А., Нехаева Т. Л., Артемьева А. С., Кудайбергенова А. Г., Проценко С. А., Новик А. В., Семиглазов В. В., Донских Р. В., Семиглазова Т. Ю., Песоцкий Р. С., Аполлонова В. С., Криворотко П. В., Беляев А. М. Иммунология и иммунотерапия в комплексном лечении злокачественных опухолей. Медицинский совет. 2021;4:248–257. doi: 10.21518/2079–701X-2021-4-248-257. [Semiglazov V. F., Tseluiko A. I., Baldueva I. A., Nekhaeva T. L., Artemyeva A. S., Kudaybergenova A. G., Protsenko S. A., Novik A. V., Semiglazov V. V., Donskikh R. V., Semiglazova T. Yu., Pesotskiy R. S., Apollonova V. S., Krivorotko P. V., Belyaev A. M. Immunology and immunotherapy in the complex treatment of malignant tumors. Meditsinskiy sovet. Medical Council. 2021;(4):248–257. (In Russ.) doi: 10.21518/2079–701X-2021-4-248-257.]
29. Mahaley M. S. Jr., Brooks W. H., Roszman T. L. (1977) Immunobiology of primary intracranial tumors. Part I: studies of the cellular and humoral general immune competence of brain-tumor patients. J Neurosurg. 1977; 46:467–476. doi: 10.3171/jns.1977.46.4.0467.
30. Dix A. R., Brooks W. H., Roszman T. L. Immune defects observed in patients with primary malignant brain tumors. J Neuroimmunol. 1999;100:216–232. doi: 10.1016/S0165–5728 (99) 00203-9.
31. Woroniecka K. I., Rhodin K. E., Chongsathidkiet P. T-cell dysfunction in Glioblastoma: applying a new framework. Clin Cancer Res. 2018;24(16):3792–3802. doi: 10.1158/1078–0432.CCR-18–0047.
32. Kim W. J., Dho Y., Ock C., Kim J. W., Choi S. H., Lee S., Kim I. H., Kim T. M., Park C. K. Clinical observation of lymphopenia in patients with newly diagnosed glioblastoma. J Neurooncol. 2019;143(2):321–328. doi: 10.1007/s11060-019-03167-2.
33. Chongsathidkiet P., Jackson C., Koyama S., Loebel F., Cui X., Farber S. H., Woroniecka K., Elsamadicy A., Dechant C. A., Kemery H. R., Sanchez-Perez L., Cheema T. A. Sequestration of T cells in bone marrow in the setting of glioblastoma and other intracranial tumors. Nat Med. 2018;24(9):1459–1468. doi: 10.1038/s41591-018-0135-2.
34. Iorgulescu J. B., Gokhale P. C., Speranza M. C., Eschle B. K., Poitras M. J., Wilkens M. K., Soroko K. M. Concurrent Dexamethasone Limits the Clinical Benefit of Immune Checkpoint Blockade in Glioblastoma. Clin Cancer Res. 2021;27(1):276–287. doi: 10.1158/1078–0432.CCR-20–2291.
35. Giles A., Hutchinson M. N. D., Sonnemann H. M., Jung J., Fecci P. E. Dexamethasone-induced immunosuppression: mechanisms and implications for immunotherapy. J Immunother Cancer. 2018;6(1):51. doi: 10.1186/s40425-018-0371-5.
36. Karachi A., Dastmalchi F., Mitchell D. A., Rahman M. Temozolomide for immunomodulation in the treatment of glioblastoma. Neuro Oncol. 2018;20(12):1566–1572. doi: 10.1093/neuonc/nyy072.
37. Hotchkiss K. M., Sampson J. H. Temozolomide treatment outcomes and immunotherapy efficacy in brain tumor. J Neurooncol. 2021;151(1):55–62. doi: 10.1007/s11060-020-03598-2.
38. Yu M. W., Quail D. F. Immunotherapy for Glioblastoma: Current Progress and Challenges. Front Immunol. 2021;12:676301. doi: 10.3389/fimmu.2021.676301.