

Анализ системного иммунитета и воспаления в прогнозе аденокарциномы желудка

Г.Г. Хакимова, Т.Н. Заботина, А.А. Трякин, А.А. Борунова, Т.В. Давыдова, А.Е. Калинин,
Ю.В. Вахабова, Е.Н. Захарова, Д.В. Табаков

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;
Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Гулноз Голибовна Хакимова hgg_doc@mail.ru

Цель исследования – изучить состояние клеточного иммунитета у больных аденокарциномой желудка.

Материалы и методы. С 2017 по 2018 г. в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина 45 ранее нелеченных больных аденокарциномой желудка (25 – с I–III стадиями, 20 – с IV стадией) получили хирургическое/комбинированное лечение или самостоятельную химиотерапию соответственно. Забор периферической крови осуществляли перед началом лечения. Исследовали клеточный состав периферической крови, а также параметры системного иммунитета, определенных методом проточной цитометрии ($CD3^+CD4^+$; $CD3^+CD8^+$; $CD4^+CD8^+$; $CD4^+/CD8^+$; $CD3^-CD16^+CD56^+$; $CD3^-CD19^+$), и их прогностическую значимость в отношении показателей общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования.

Результаты. Высокий ($>208,7$) уровень тромбоцитарно-лимфоцитарного индекса ассоциировался с высокими показателями выживаемости без прогрессирования (медиана 8,1 мес против 4,5 мес ($p = 0,0027$)). Фактором благоприятного прогноза в отношении общей выживаемости явилось повышение числа $CD3^-CD19^+$ -лимфоцитов (отношение рисков (ОР) 0,91; 95 % доверительный интервал (ДИ) 0,85–0,97; $p = 0,007$), а неблагоприятного прогноза – повышение числа нейтрофилов (ОР 1,26; 95 % ДИ 1,05–1,50; $p = 0,012$), числа тромбоцитов (ОР 1,01; 95 % ДИ 1,0–1,01; $p = 0,043$), а также числа НК-клеток (ОР 1,04; 95 % ДИ 1,0–1,09; $p = 0,029$).

Заключение. Показатели клеточного состава периферической крови, характеризующие системную воспалительную реакцию, а также показатели системного иммунитета могут служить дополнительными прогностическими факторами при раке желудка.

Ключевые слова: аденокарцинома желудка, клеточный иммунитет, субпопуляция лимфоцитов, нейтрофильно-лимфоцитарный индекс, тромбоцитарно-лимфоцитарный индекс

Для цитирования: Хакимова Г.Г., Заботина Т.Н., Трякин А.А. и др. Анализ системного иммунитета и воспаления в прогнозе аденокарциномы желудка. Успехи молекулярной онкологии 2020;7(1):38–46.

DOI: 10.17650/2313-805X-2020-7-1-38-46



Analysis of systemic immunity and inflammation in the prognosis of gastric adenocarcinoma

G.G. Khakimova, T.N. Zabolina, A.A. Tryakin, A.A. Borunova, T.V. Davidova, A.E. Kalinin,
Yu.V. Vakhabova, E.N. Zakharova, D.V. Tabakov

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

Objective: to study the state of cellular immunity in patients with gastric adenocarcinoma.

Materials and methods. From 2017 to 2018, 45 previously untreated patients with gastric adenocarcinoma (25 with stage I–III, 20 with stage IV) received surgical/combined treatment or independent chemotherapy, respectively, at the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology. Peripheral blood sampling was carried out before starting treatment. We studied the cellular composition of peripheral blood, as well as systemic immunity parameters determined by flow cytometry ($CD3^+CD4^+$; $CD3^+CD8^+$; $CD4^+CD8^+$; $CD4^+/CD8^+$; $CD3^-CD16^+CD56^+$; $CD3^-CD19^+$), and their prognostic significance in relation to overall survival and progression-free survival.

Results. The prognostic value of the relative indicator of platelet lymphocytic index was determined: progression-free survival in patients with a high level of platelet-lymphocytic index ($>208,7$) was higher: 8.1 months versus 4.5 months ($p = 0,0027$). A favorable prognosis for overall survival was an increase in the number of $CD3^-CD19^+$ lymphocytes (hazard ratio (HR) 0.91; 95 % confidence interval (CI) 0.85–0.97; $p = 0,007$), and an unfavorable prognosis was an increase in the number of neutrophils (HR 1.26; 95 % CI 1.05–1.50; $p = 0,012$), platelet count (HR 1.01; 95 % CI 1.0–1.01; $p = 0,043$), as well as an increase in the number of NK cells (HR 1.04, 95 % CI 1.0–1.09; $p = 0,029$).

Conclusion. Indicators of the cellular composition of peripheral blood, characterizing a systemic inflammatory reaction, as well as indicators of systemic immunity, can serve as additional prognostic factors for gastric cancer.

Key words: gastric adenocarcinoma, cellular immunity, subpopulation of lymphocytes, neutrophilic lymphocytic index, platelet lymphocytic index

For citation: Khakimova G.G., Zabolina T.N., Tryakin A.A. et al. Analysis of systemic immunity and inflammation in the prognosis of gastric adenocarcinoma. Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology 2020;7(1):38–46. (In Russ.).

Введение

Рак желудка (РЖ) занимает 5-е место среди онкологических заболеваний (1 313 000 случаев) и является 3-й причиной смертности от рака (819 000 случаев смерти) в мире [1]. В структуре онкологической заболеваемости в России РЖ устойчиво занимает лидирующие позиции. Несмотря на снижение заболеваемости РЖ за последние 10 лет, около 40 тыс. россиян ежегодно умирают от этой патологии [2]. За год в России диагностируется 45–49 тыс. новых случаев РЖ, что составляет более 11 % всех злокачественных опухолей [3]. По данным О. Yazıcı и соавт., 5-летняя общая выживаемость (ОВ) пациентов с РЖ в мире в 2016 г. составила не более 20–30 % [4]. В то же время при местно-распространенных опухолях примерно в 50 % случаев после адьювантного лечения наблюдается местный/системный рецидив, и 5-летняя ОВ достигается только в 10–15 % случаев [5]. При метастатическом процессе паллиативная химиотерапия дает незначительный выигрыш с медианой ОВ приблизительно 8–10 мес [6]. Несмотря на то что агрессивная хирургическая тактика и расширенные операции являются стандартом, при котором можно добиться полного излечения, с воздействием на предположительно существующие даже на ранних стадиях имплантационные или гематогенные метастазы с помощью адьювантной, неоадьювантной, регионарной, внутрисполостной химиотерапии, результаты все еще довольно скромны. Поэтому понятны стремления ученых найти «ключ» к пониманию возможностей патогенетической регуляции процессов роста и дифференцировки злокачественной клетки [4].

Особый интерес представляет оценка роли иммунной системы в контроле опухолевого роста и, соответственно, в прогнозе заболевания. Иммунная система и клетки, инфильтрирующие опухоль, являются объектом активного изучения [7–9], поскольку им отводится ключевая роль в формировании противоопухолевого иммунитета. Многообразие субпопуляций иммунных клеток, а также основных продуктов их синтеза и путей совместного взаимодействия может объяснять как активацию путей противоопухолевой защиты, так и потенцирование прогрессирования заболевания. Кроме этого, анализ данных литературы последних лет показал несомненную прогностическую ценность системных воспалительных индексов, основанных на подсчете соотношений нейтрофилов, лимфоцитов и тромбоцитов в периферической крови пациентов с колоректальным раком [10], РЖ [11, 12] и гепатоцеллюлярным раком [13], что позволяет использовать эти показатели в клинической практике на этапе планирования комплексного лечения пациентов со злокачественными новообразованиями, а также максимально рано выявлять признаки развития рецидива заболевания.

Цель исследования — изучить состояние клеточно-иммунитета у больных аденокарциномой желудка.

Материалы и методы

Проведено проспективное исследование со случайным формированием выборки с включением больных РЖ, проходивших лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина в период с 2017 по 2018 г. Анализ статуса системного иммунитета в периферической крови осуществляли однократно, до начала лечения.

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.

Лечение проводили согласно существующим стандартам (I–III стадии — хирургическое или комбинированное лечение; IV стадия — лекарственная терапия).

До начала лечения всем пациентам проведен стандартный комплекс обследований: физикальный осмотр, клинический и биохимический анализ крови, электрокардиограмма в 12 отведениях, компьютерная томография в целях уточнения распространенности опухолевого процесса. Все пациенты имели удовлетворительный общий статус, определенный по шкале ECOG, — 0–1 балл.

Лабораторные методы. Для выявления прогностической ценности клинических маркеров воспаления был проведен расчет следующих соотношений (по результатам клинического анализа крови на этапе исходной оценки): 1) нейтрофильно-лимфоцитарный индекс (НЛИ); 2) тромбоцитарно-лимфоцитарный индекс (ТЛИ).

Анализ показателей субпопуляций лимфоцитов периферической крови осуществляли методом проточной цитометрии в целях определения структуры иммунных клеток CD3⁺CD4⁺; CD3⁺CD8⁺; CD4⁺CD8⁺; CD4⁺/CD8⁺; CD3⁻CD16⁺CD56⁺; CD3⁻CD19⁺.

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 2000 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 помощью программного пакета WinMDI версии 2.8.

Статистическая обработка результатов. 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.

Основные оцениваемые параметры. Основными конечными точками в данном исследовании были ОВ и выживаемость без прогрессирования (ВБП). ОВ определяли как время от момента постановки диагноза РЖ до момента смерти пациента от любой причины либо до даты последнего контакта с больным. ВБП определяли как время от начала лечения заболевания до времени регистрации имеющихся проявлений болезни либо до появления новых метастатических очагов. Показатели выживаемости рассчитывали из реальных данных о длительности жизни каждого больного на момент завершения исследования с использованием метода Каплана–Майера. Кривые выживаемости сравнивали с использованием *log-rank*-теста.

Результаты

Характеристика пациентов. В исследование были включены 45 пациентов с РЖ (19 (42,2 %) мужчин и 26 (57,8 %) женщин). Возраст пациентов варьировал от 37 до 80 лет (средний возраст $60,9 \pm 10,9$ года, медиана 62 года). В НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина в 2017–2018 гг. 25 (55,6 %) пациентов с локализованным РЖ получили на 1-м этапе хирургическое лечение (1-я группа), 20 (44,4 %) пациентов с IV стадией – химиотерапевтическое лечение (2-я группа). Медиана наблюдения за больными составила 18,5 (15,2–20,4) мес (в 1-й группе – 18,3 (15,2–19,2) мес, во 2-й – 19,5 (8,7–22,7) мес).

Из 20 (44,4 %) пациентов 2-й группы метастатическое поражение было представлено асцитом у 10 больных, метастазами в легких – у 2, метастазами в печень – у 5, у 3 пациентов диссеминация затрагивала несколько областей (печень, легкие, висцеральные и забрюшинные лимфатические узлы). Характеристика больных представлена в табл. 1.

Исследование факторов системного воспаления. Полученные результаты представлены в табл. 2.

Таблица 1. Характеристика пациентов

Table 1. Patient characteristics

Характеристика Characteristic	1-я группа 1 st group	2-я группа 2 nd group	Всего Total
Число пациентов, <i>n</i> (%) Number of patients, <i>n</i> (%)	25 (55,6)	20 (44,4)	45 (100)
Средний возраст, лет Mean age, years	65 (60–69)	58 (44,5–64,0)	62 (58–67)
Возрастная группа, <i>n</i> (%): Age group, <i>n</i> (%):			
до 45 лет under 45 years	0	5 (25)*	5 (11,1)
46–60 лет 46–60 years	7 (28)	6 (30)	13 (28,9)
старше 60 лет above 60 years	18 (72)	9 (45)	27 (60,0)
Пол, <i>n</i> (%): Gender, <i>n</i> (%):			
мужской male	10 (40)	9 (45)	19 (42,2)
женский female	15 (60)	11 (55)	26 (57,8)
Стадия TNM, <i>n</i> (%): TNM stage, <i>n</i> (%):			
I	3 (16,7)	0	3 (9,7)
II	6 (33,3)	0	6 (19,4)
III	9 (50,0)	0	9 (29,0)
IV	0	13 (100)	13 (41,9)
Степень дифференцировки, <i>n</i> (%): Differentiation grade, <i>n</i> (%):			
G ₁	3 (12)	2 (10)	5 (11,1)
G ₂	8 (32)	6 (30)	14 (31,1)
G ₃	14 (56)	12 (60)	26 (57,8)
Тип по классификации Lauren, <i>n</i> (%): Lauren classification type, <i>n</i> (%):			
кишечный intestinal	16 (64)	12 (60)	28 (62,2)
диффузный diffuse	7 (28)	6 (30)	13 (28,9)
смешанный mixed	2 (8)	2 (10)	4 (8,9)
Статус MSI, <i>n</i> (%): MSI status, <i>n</i> (%):			
MSS	23 (92)	20 (100)	43 (95,6)
MSI-H	2 (8)	0	2 (4,4)
Гиперэкспрессия HER2, <i>n</i> (%): HER2 hyperexpression, <i>n</i> (%):			
нет absent	0	11 (55)	11 (24,4)
есть present	0	6 (30)	6 (13,3)
неизвестно not known	25 (100)	3 (15)	28 (62,2)

*Статистические различия между группами ($p < 0,008$).

*Significant differences between the groups ($p < 0,008$).

Таблица 2. Результаты анализа клинических маркеров воспаления

Table 2. Results of analysis of clinical inflammation markers

Показатель Characteristic	1-я группа (n = 25) 1 st group (n = 25)		2-я группа (n = 20) 2 nd group (n = 20)		Сравнение между 1-й и 2-й группами, p (Манна–Уитни) Comparison between the 1 st and 2 nd groups, p (Mann–Whitney)
	Медиана Median	Квартили Quartiles	Медиана Median	Квартили Quartiles	
Показатели периферической крови Peripheral blood characteristics					
Нейтрофилы, × 10 ⁹ /л Neutrophils, × 10 ⁹ /L	4,90	3,17–8,84	3,63	3,04–5,17	0,147
Тромбоциты, × 10 ⁹ /л Platelets, × 10 ⁹ /L	265,0	222,0–311,0	270,0	221,0–348,5	0,793
Лимфоциты, × 10 ⁹ /л Lymphocytes, × 10 ⁹ /L	2,13	1,65–2,75	1,68	1,44–2,40	0,337
Относительные индексы Relative indices					
Нейтрофильно-лимфоцитарный индекс Neutrophil-lymphocyte ratio	2,29	1,36–4,99	2,19	1,55–2,85	0,954
Тромбоцитарно-лимфоцитарный индекс Platelet-lymphocyte ratio	120,19	92,11–168,56	154,0	113,0–228,76	0,278

Примечание. Достоверных различий нет.

Note. No significant differences observed.

При анализе маркеров воспаления у пациентов с РЖ относительно референсных значений нормы (уровни нейтрофилов $2-6,85 \times 10^9/\text{л}$, лимфоцитов $1,10-3,20 \times 10^9/\text{л}$, тромбоцитов $180-320 \times 10^9/\text{л}$) выявлено, что у 2/3 (73–78 %) пациентов показатели нейтрофилов, лимфоцитов и тромбоцитов соответствуют норме. В то же время отмечено, что в 1-й группе число пациентов с отклонением количества нейтрофилов от нормы достоверно выше, чем во 2-й группе (40 % против 10 %; $p = 0,025$ по Фишеру), при одинаковых значениях доли повышенных лимфоцитов и тромбоцитов в обеих группах (24 % против 30 %; 24 % против 20 %). Количество нейтрофилов у 90 % пациентов с метастатическим РЖ (2-я группа) соответствует норме, тогда как в 1-й группе всего в 60 % случаев не отмечается отклонение от нормального диапазона числа нейтрофилов (табл. 3).

При этом повышение числа нейтрофилов и НЛИ встречается преимущественно у мужчин и более выражено в 1-й группе ($r = -0,58$; $r = -0,74$). Повышение числа тромбоцитов чаще встречается при кишечном типе аденокарциномы желудка и преимущественно представлено во 2-й группе ($r = -0,66$).

Исследование системного клеточного иммунитета в периферической крови. Полученные результаты представлены в табл. 4.

При оценке клинических маркеров воспаления и системного иммунитета относительно таких клинических факторов, как возраст, пол, стадия заболевания, степень дифференцировки (G) и тип по класси-

фикации Laugen, у 45 пациентов с РЖ зависимость не обнаружена. Однако при подгрупповом анализе выявлено, что у пациентов 1-й группы с повышением числа нейтрофилов растет и число В-клеток ($R = 0,65$). Помимо этого, медиана числа нейтрофилов при III стадии оказалась достоверно выше, чем при I–II стадиях ($7,02 \times 10^9/\text{л}$ против $3,48 \times 10^9/\text{л}$; $p = 0,045$) и при IV стадии ($7,02 \times 10^9/\text{л}$ против $3,63 \times 10^9/\text{л}$; $p = 0,0170$). ТЛИ был достоверно выше у пациентов 2-й группы по сравнению с таковым у больных с локализованными стадиями (154,03 против 113,09; $p = 0,0450$). Отмечено снижение числа цитотоксических эффекторных клеток по мере увеличения стадии заболевания (39,90 для I–II стадий против 24,70 для IV стадии; $p = 0,0170$). Выявлено увеличение числа НК-клеток у пациентов с большей распространенностью опухолевого процесса: при I–II, III и IV стадиях – 11,8; 13,0 и 21,3 соответственно, но уменьшение числа В-клеток при IV стадии по сравнению с III (1,0 против 1,9; $p = 0,0130$).

Прогностическое значение системного клеточного иммунитета в периферической крови. За время наблюдения 18,5 (15,2–20,4) мес от прогрессирования основного заболевания умерли 3 (12 %) из 25 больных 1-й группы и 10 (50 %) из 20 пациентов 2-й группы ($p = 0,007$). Прогрессирование заболевания зарегистрировано у 29 (62,2 %) пациентов: у 20 (100 %) во 2-й группе и у 9 (36 %) в 1-й.

В 1-й группе 1-летняя ОВ составила $92,0 \pm 5,4$ %, во 2-й – $70,0 \pm 10,2$ %; 1-летняя ВВП – $64,0 \pm 9,6$ и $10,0 \pm 6,7$ % соответственно.

Таблица 3. Показатели факторов воспаления относительно референсных значений

Table 3. Comparison of inflammation factors' values to reference values

Показатель Characteristic	1-я группа (n = 25), n (%) 1 st group (n = 25), n (%)	2-я группа (n = 20), n (%) 2 nd group (n = 20), n (%)	Всего, n (%) Total, n (%)
Нейтрофилы: Neutrophils:			
выше/ниже нормальных показателей lower/higher than norm	10 (40)	2 (10)*	12 (26,7)
нормальные показатели normal values	15 (60)	18 (90)	33 (73,3)
Лимфоциты: Lymphocytes:			
выше/ниже нормальных показателей lower/higher than norm	6 (24)	6 (30)	12 (26,7)
нормальные показатели normal values	19 (76)	14 (70)	33 (73,3)
Тромбоциты: Platelets:			
выше/ниже нормальных показателей lower/higher than norm	6 (24)	4 (20)	10 (22,2)
нормальные показатели normal values	19 (76)	16 (80)	35 (77,8)

* $p = 0,025$.

Таблица 4. Результаты анализа клинических характеристик системного иммунитета

Table 4. Results of analysis of clinical characteristics of systemic immunity

Показатель иммунитета в крови Immunity characteristic in blood	1-я группа (n = 25) 1 st group (n = 25)		2-я группа (n = 20) 2 nd group (n = 20)		Сравнение между 1-й и 2-й группами, p (Манна–Уитни) Comparison between the 1 st and 2 nd groups, p (Mann–Whitney)
	Медиана Median	Квартили Quartiles	Медиана Median	Квартили Quartiles	
CD3 ⁺ CD4 ⁺ (N = 35–46)	39,7	29,6–45,5	37,3	32,0–49,1	0,828
CD3 ⁺ CD8 ⁺ (N = 25–35)	32,8	23,0–41,2	24,7	20,5–33,6	0,075
CD4 ⁺ CD8 ⁺ (N = 1,2–2,4)	1,7	1,1–2,7	2,0	1,2–2,3	0,882
CD4/CD8	0,9	0,8–1,1	0,9	0,8–1,8	0,401
CD3 ⁻ CD19 ⁺	1,6	1,3–2,2	1,0	0,6–1,5	0,017
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	11,8	7,3–25,0	21,3	9,4–30,4	0,140

Для определения независимых прогностических признаков, влияющих на показатели ВБП и ОВ, выполнен последовательный регрессионный анализ Кокса. В него были включены показатели системного иммунитета – CD3⁺CD4⁺; CD3⁺CD8⁺; CD4⁺CD8⁺; CD4⁺/CD8⁺; CD3⁻ CD16⁺CD56⁺; CD3⁻ CD19⁺ и показатели системного воспаления – уровни нейтрофилов, тромбоцитов, лимфоцитов, НЛИ, ТЛИ из однофакторного анализа с уровнем $p < 0,05$. Результаты нашего анализа выявили влияние количества НК-клеток на ОВ (относительный риск (ОР) 1,04; 95 % доверительный интервал (ДИ) 1,0–1,09; $p = 0,029$). Диапазон процентного содержания CD3⁻ CD16⁺CD56⁺-НК-кле-

ток у исследуемой когорты больных составил 10–24 % (табл. 5).

Для определения зависимости ОВ от уровня НК-клеток (N = 10–24 %) больные РЖ были распределены на 3 группы: ниже нормы; норма; выше нормы (ниже нормы – норма $p = 0,861$; выше нормы – норма $p = 0,049$; ниже нормы – выше нормы $p = 0,012$) по *log-rank*-тесту.

На рис. 1 продемонстрировано, что высокие показатели НК-клеток свидетельствуют о неблагоприятном прогнозе.

При анализе влияния показателей системного воспаления на выживаемость выявлена взаимосвязь ВБП

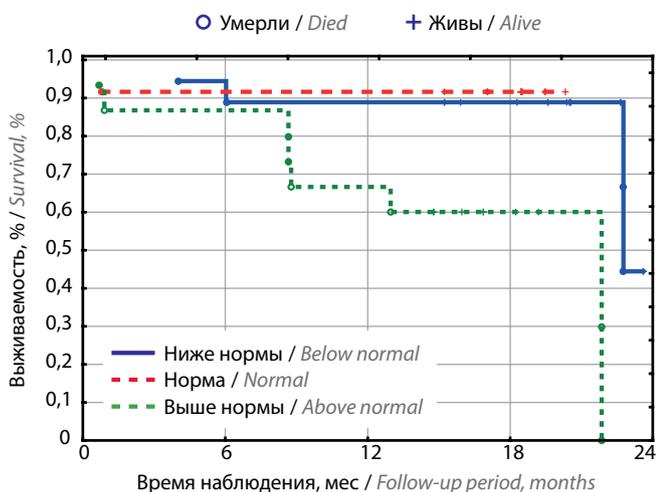


Рис. 1. Влияние $CD3^-CD16^+CD56^+$ -NK-клеток на показатели общей выживаемости

Fig. 1. Effect of $CD3^-CD16^+CD56^+$ -NK-cells on overall survival

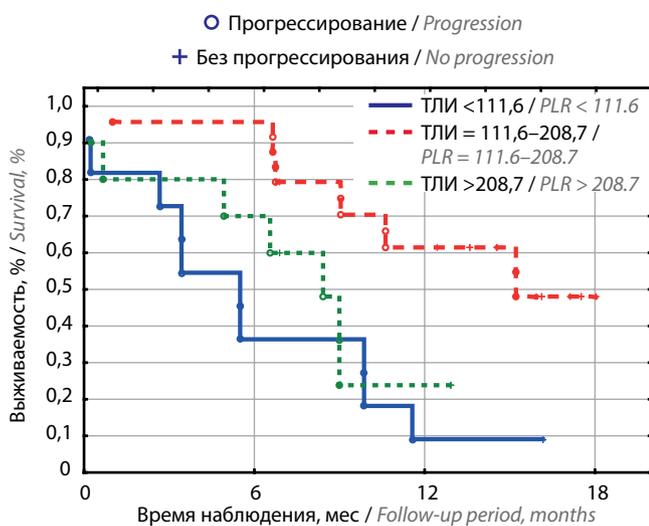


Рис. 2. Влияние тромбоцитарно-лимфоцитарный индекса (ТЛИ) на показатели выживаемости без прогрессирования

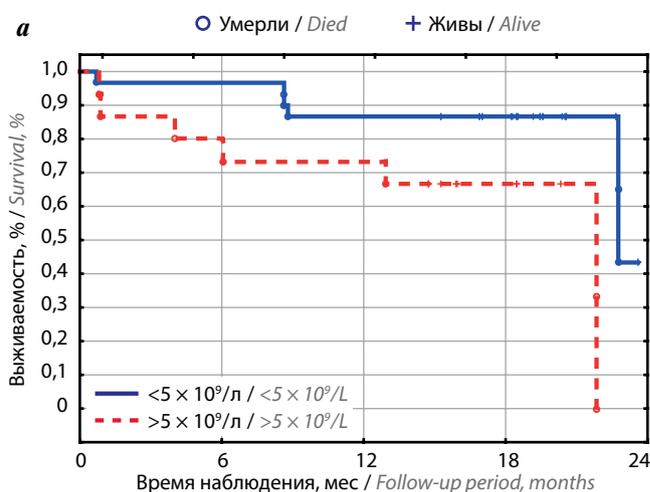
Fig. 2. Effect of platelet-lymphocyte ratio (PLR) on progression-free survival

и ТЛИ. Для оценки прогностической ценности ТЛИ на выживаемость мы использовали 3 диапазона значений, которые выделили с учетом 25-го и 75-го квартилей [14]:

- низкий уровень (ТЛИ $<111,6$);
- нормальный (ТЛИ = $111,6-208,7$);
- высокий (ТЛИ $>208,7$).

Для низкого уровня ТЛИ ($n = 11$) 1-летняя ВБП составила $9,1 \pm 8,7$ % (медиана 4,5 мес), для нормального ($n = 24$) – $61,6 \pm 10,1$ % (медиана 15,2 мес), для высокого ($n = 10$) – $24,0 \pm 14,5$ % (медиана 8,1 мес) для среднего диапазона значений ($p = 0,0027$) (рис. 2). Помимо этого, однофакторный анализ подтвердил значимое влияние числа нейтрофилов и тромбоцитов на показатели ОВ: ОР 1,26; 95 % ДИ 1,05–1,50; $p = 0,012$ и ОР 1,01; 95 % ДИ 1,00–1,01; $p = 0,043$ соответственно.

Сравнение ОВ пациентов с нормальными и повышенными показателями нейтрофилов и тромбоцитов



а

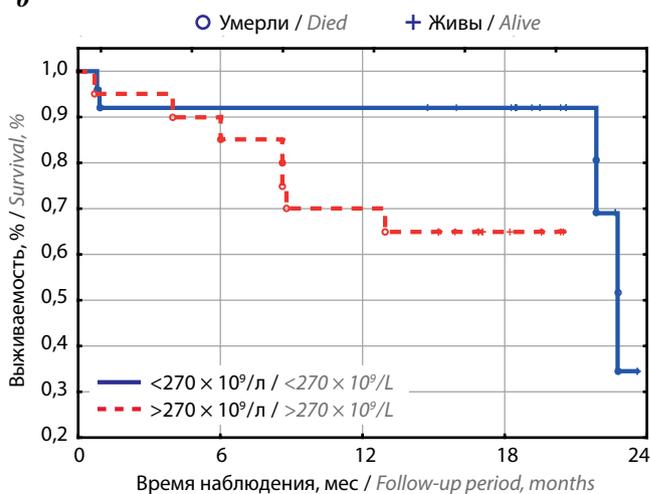


Рис. 3. Граница показателя нейтрофилов (а) и тромбоцитов (б) при анализе ROC-кривой

Fig. 3. Boundary values for neutrophils (a) and platelets (b) in ROC curve analysis

не выявило достоверных различий. В связи с этим с использованием метода построения ROC-кривой были определены границы с оптимальным соотношением чувствительности и специфичности. Для нейтрофилов граница составила $5 \times 10^9/л$, для тромбоцитов – $270 \times 10^9/л$ (рис. 3). Сравнение ОВ в группах дало следующие результаты: для нейтрофилов $p = 0,019$, для тромбоцитов $p = 0,049$.

По результатам последовательного регрессионного многофакторного анализа для больных РЖ было выделено 3 независимых прогностических признака (табл. 6).

Из табл. 6 видно, что все 3 показателя являются факторами неблагоприятного прогноза течения РЖ. При подгрупповом однофакторном анализе Кокса показателей системного и клеточного иммунитета выявлено, что ни один из показателей достоверно не влияет на БРВ и ОВ у пациентов с локальными и местно-распространенными формами РЖ. Однако у пациентов 2-й группы выявлена зависимость ОВ и ВБП от следующих показателей: ОВ от уровней нейтрофилов

Таблица 5. Признаки, влияющие на показатели общей выживаемости больных раком желудка, по результатам однофакторного анализа

Table 5. Characteristics affecting overall survival of patients with stomach cancer per one-factor analysis

Показатель Characteristic	Относительный риск (95 % доверительный интервал) Relative risk (95 % confidence interval)	<i>p</i>
Нейтрофилы Neutrophils	1,26 (1,05–1,50)	0,012
Тромбоциты Platelets	1,01 (1,00–1,01)	0,043
Лимфоциты Lymphocytes	1,50 (0,89–2,52)	0,128
Нейтрофильно-лимфоцитарный индекс Neutrophil-lymphocyte ratio	1,22 (0,84–1,75)	0,292
Тромбоцитарно-лимфоцитарный индекс Platelet-lymphocyte ratio	1,00 (0,99–1,01)	0,779
CD3 ⁺ CD4 ⁺	1,01 (0,96–1,06)	0,754
CD3 ⁺ CD8 ⁺	0,96 (0,90–1,02)	0,176
CD4 ⁺ CD8 ⁺	1,21 (0,92–1,59)	0,169
CD4/CD8	1,17 (0,44–3,10)	0,749
CD3 ⁻ CD19 ⁺	1,06 (0,84–1,35)	0,611
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	1,04 (1,00–1,09)	0,029

(ОР 1,33; 95 % ДИ 1,08–1,65; $p = 0,008$), тромбоцитов (ОР 1,01; 95 % ДИ 1,00–1,02; $p = 0,006$), CD3⁻CD16⁺CD56⁺-NK-клеток (ОР 1,09; 95 % ДИ 1,02–1,16; $p = 0,007$); ВБП от уровней нейтрофилов (ОР 1,34; 95 % ДИ 1,07–1,67; $p = 0,010$), тромбоцитов (ОР 1,01; 95 % ДИ 1,01–1,02; $p = 0,0006$), НЛИ (ОР 2,80; 95 % ДИ 1,36–5,75; $p = 0,005$) и CD3⁻CD16⁺CD56⁺-NK-клеток (ОР 1,05; 95 % ДИ 1,01–1,10; $p = 0,023$). Помимо этого, при однофакторном анализе зависимости ОВ и ВБП от клинических факторов выявлено, что с увеличением возраста пациентов и стадии заболевания уменьшается ВБП (ОР 1,06; 95 % ДИ 1,01–1,12; $p = 0,012$ и ОР 2,79; 95 % ДИ 1,57–4,95; $p = 0,0005$ соответственно).

Обсуждение

При изучении системного иммунитета больных РЖ были получены достоверные различия между группами в содержании CD3⁺CD8⁺-цитотоксических эффекторных клеток, CD3⁻CD19⁺-В-клеток и CD3⁻CD16⁺CD56⁺-NK-клеток. Отмечена прямо пропорциональная связь между клетками эффекторного звена иммунитета. Так, у больных 1-й группы содержание специфических цитотоксических лимфоцитов досто-

Таблица 6. Факторы, достоверно влияющие на показатели общей выживаемости больных раком желудка, по результатам многофакторного регрессионного анализа

Table 6. Factors significantly affecting overall survival of patients with stomach cancer per multifactorial regression analysis

Показатель Characteristic	Относительный риск (95 % доверительный интервал) Relative risk (95 % confidence interval)	<i>p</i>
Нейтрофилы (N = 2–6,85 × 10 ⁹ /л) Neutrophils (N = 2–6,85 × 10 ⁹ /L)	1,26 (1,05–1,50)	0,012
Тромбоциты (N = 180–320 × 10 ⁹ /л) Platelets (N = 180–320 × 10 ⁹ /L)	1,01 (1,00–1,01)	0,043
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ (N = 10–24 %)	1,04 (1,00–1,09)	0,029

верно выше по сравнению с таковым у пациентов 2-й группы. Одновременно с этим выявлено, что процентное содержание CD3⁻CD16⁺CD56⁺-NK-клеток у пациентов 2-й группы, напротив, оказалось достоверно выше показателей 1-й группы – 11,0 % против 21,3 % ($p < 0,05$). Оценка показателей выживаемости с помощью однофакторного регрессионного анализа Кокса выявила отрицательное влияние высокого уровня NK-клеток на ОВ пациентов с РЖ (ОР 1,04; 95 % ДИ 1,0–1,09; $p = 0,029$). Таким образом, увеличение доли клеток эффекторного звена в пользу NK-клеток с одновременным уменьшением числа цитотоксических Т-лимфоцитов свидетельствует о неэффективном иммунном ответе пациентов 2-й группы. Аналогичные данные были получены М. Desbois и соавт. и G.O. Liu и соавт. [15, 16], выявившими зависимость между инфльтрацией NK-клетками опухоли и показателями выживаемости.

Интересно отметить, что процентное содержание специфических эффекторных цитотоксических CD3⁺CD8⁺-Т-клеток в структуре Т-клеточного звена оказалось выше у пациентов 1-й группы, чем 2-й (32,8 % против 24,7 %; $p = 0,05$), что свидетельствует о специфической активности иммунной системы на более ранних стадиях РЖ.

Прогностическая значимость CD3⁺CD8⁺-Т-клеток при РЖ исследовалась и в наблюдении G.O. Liu и соавт. [16]. Авторами проанализированы данные 274 больных РЖ III стадии, разделенных на группы с высоким и низким уровнем CD8⁺-Т-клеток. При медиане наблюдения 21,4 мес было обнаружено, что у пациентов с высоким уровнем CD3⁺CD8⁺-Т-клеток в периферической крови был статистически достоверно лучший послеоперационный прогноз, чем у пациентов с низким уровнем CD3⁺CD8⁺-Т-клеток (45,32 мес против 23,52 мес; $p = 0,02$). Анализ В-лимфоцитов у пациентов с РЖ выявил, что процентное содержание CD3⁻CD19⁺ оказалось ниже показателей нормы. В то же время число В-клеток у пациентов 1-й группы по

сравнению со 2-й (1,6 % против 1,0 %) оказалось достоверно выше, что коррелировало с благоприятным течением заболевания ($p = 0,01$).

Согласно последним данным зарубежной литературы НЛИ и ТЛИ могут являться информативными факторами прогноза течения РЖ в связи с обнаруженным их влиянием на ОВ пациентов. Так, по данным М. Могі и соавт., повышение значения НЛИ у пациентов с аденокарциномой желудка, получавших адъювантную химиотерапию, является фактором неблагоприятного прогноза, влияющим как на ОВ, так и на БРВ [17].

В нашем исследовании не получено достоверных данных о влиянии НЛИ на показатели выживаемости, однако с помощью метода построения ROC-кривой были определены границы с оптимальным соотношением чувствительности и специфичности. Для нейтрофилов граница составила $5 \times 10^9/\text{л}$, а их количество напрямую коррелирует со стадией заболевания. Оказалось, что уровень нейтрофилов достигает своего максимума при III стадии болезни, а при I–II и IV стадиях показатели находятся в пределах $3,48\text{--}3,63 \times 10^9/\text{л}$

($p = 0,045$). Метод построения ROC-кривой определил границы с оптимальным соотношением чувствительности и специфичности для тромбоцитов, что составило $270 \times 10^9/\text{л}$. При анализе ТЛИ в зависимости от стадии заболевания выявлено повышение его значения по мере прогрессирования заболевания. Так, значение ТЛИ при I–II стадиях РЖ составило 113 нг/мл, при IV – 154 нг/мл ($p = 0,045$). Аналогичные результаты были получены при анализе данных 723 пациентов с аденокарциномой желудка или желудочно-пищеводного соединения и показали, что именно повышенный показатель ТЛИ является достоверным фактором прогноза течения заболевания, оказывающим влияние как на ОВ, так и на безрецидивную выживаемость [18].

Заключение

Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о возможности использования показателей клеточного иммунитета и системного воспалительного ответа у больных РЖ в качестве дополнительных прогностических маркеров оценки ВБП и ОВ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Global Burden of Disease Cancer Collaboration, Fitzmaurice C., Allen C. et al. Global, regional, and national cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life-years for 32 cancer groups, 1990 to 2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study. *JAMA Oncol* 2017;3(4):524–48. DOI: 10.1001/jamaoncol.2016.5688.
- Давыдов М.И., Аксель Е.М. Заболеваемость злокачественными новообразованиями населения России и стран СНГ в 2004 г. Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН 2008; 19(2 прил.1):52–90. [Davydov M.I., Aksel' E.M. The incidence of malignant neoplasms of the population of Russia and the CIS countries in 2004. *Vestnik RONTs im. N.N. Blokhina RAMN = Bulletin of the Russian Research Center N.N. Blokhin RAMS* 2008; 19(2 att. 1):52–90. (In Russ.)].
- Давыдов М.И., Тер Ованесов М.В. Современная стратегия хирургического лечения рака желудка. Современная онкология 2000;2(1):4–10. [Davydov M.I., Ter-Ovanesov M.D. A modern strategy for the surgical treatment of gastric cancer. *Sovremennaya onkologiya = Modern Oncology* 2000;2(1):4–10. (In Russ.)].
- Yazici O., Sendur M.A., Ozdemir N., Aksoy S. Targeted therapies in gastric cancer and future perspectives. *World J Gastroenterol* 2016;22(2):471–89. DOI: 10.3748/wjg.v22.i2.471.
- Waddell T., Verheij M., Allum W. et al. Gastric cancer: ESMO-ESSO-ESTRO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2013;24 Suppl 6:vi57–63. DOI: 10.1093/annonc/mdt344.
- Okines A.F., Norman A.R., McCloud P. et al. Meta-analysis of the REAL-2 and ML17032 trials: evaluating capecitabine-based combination chemotherapy and infused 5-fluorouracil-based combination chemotherapy for the treatment of advanced oesophago-gastric cancer. *Ann Oncol* 2009;20(9):1529–34. DOI: 10.1093/annonc/mdp047.
- Бережная Н.М. Взаимодействие клеток системы иммунитета с другими компонентами микроокружения. Онкология 2009;1(2):86–93. [Berezhnaya N.M. The interaction of cells of the immune system with other components of the microenvironment. *Onkologiya = Oncology* 2009;1(2):86–93. (In Russ.)].
- Coussens L.M., Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature* 2002;420(6917):860–7. DOI: 10.1038/nature01322.
- Takenaka Y., Oya R., Kitamiura T. et al. Platelet count and platelet-lymphocyte ratio as prognostic markers for head and neck squamous cell carcinoma: Meta-analysis. *Head Neck* 2018;40(12):2714–23. DOI: 10.1002/hed.25366.
- Mori M., Shuto K., Kosugi C. et al. An increase in the neutrophil-to-lymphocyte ratio during adjuvant chemotherapy indicates a poor prognosis in patients with stage II or III gastric cancer. *BMC Cancer* 2018;18(1):1261. DOI: 10.1186/s12885-018-5171-2.
- Galon J., Pages F., Marincola F.M. et al. Cancer classification using the immunoscore: a worldwide task force. *J Transl Med* 2012;10:205. DOI: 10.1186/1479-5876-10-205.
- Passardi A., Scarpini E., Cavanna L. et al. Inflammatory indexes as predictors of prognosis and bevacizumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *Oncotarget* 2016;7(22):33210–9. DOI: 10.18632/oncotarget.8901.
- Gunaldi M., Goksu S., Erdem D. et al. Prognostic impact of platelet/lymphocyte and neutrophil/lymphocyte ratios in patients with gastric cancer: a multicenter study. *Int J Clin Exp Med* 2015;8(4):5937–42.
- Кутукова С.И., Беляк Н.П., Раскин Г.А. и др. Системное воспаление и иммунологическое микроокружение в прогнозе течения солидных опухолей. Злокачественные опухоли 2019;9(1):29–37. DOI: 10.18027/2224-5057-2019-9-1-29-37. [Kutukova S.I., Belyak N.P., Raskin G.A. et al. Cistemnoe vospalenie i immunologicheskoe mikrookruzhenie v prognoze techeniya solidnykh opukholey. *Zlo-kachestvennyye opukholy = Malignant Tumors* 2019;9(1):29–37. (In Russ.)].
- Desbois M., Rusakiewicz S., Locher C. et al. Natural killer cells in non-hematopoietic malignancies. *Front Immunol* 2012;3:395. DOI: 10.3389/fimmu.2012.00395.

16. Liu G.O., Song-Wen H., Ke P. Prognostic significance of preoperative CD8+ central memory T cells for operable and advanced gastric cancer *Int J Clin Exp Pathol* 2017;10(3):3424–30.
17. Mantovani A., Romero P., Palucka A.K., Marincola F.M. Tumor immunity: effector response to tumor and role of the microenvironment. *Lancet* 2008;371(9614): 771–83.
DOI: 10.1016/S0140-6736(08)60241-X.
18. Тупицын Н.Н. Иммунофенотип рака молочной железы. В кн.: Рак молочной железы. Под ред. Н.Е. Кушлинского, С.М. Портного, К.Г. Лактионова. М.: РАМН, 2005. С. 174–197. [Tupicin N.N. Immunophenotype of breast cancer. *Mammary Cancer*. Eds.: N.E. Kushlinskii, S.M. Portnoy, K.G. Laktionov. Moscow: RAMN, 2005. Pp. 174–197. (In Russ.)].

Вклад авторов

Г.Г. Хакимова: сбор и обработка материала, статистическая обработка, написание текста статьи;
Т.Н. Заботина, А.А. Трякин: разработка концепции и дизайна исследования, редактирование текста;
А.А. Борунова, Т.В. Давыдова, А.Е. Калинин, Ю.В. Вахабова, Е.Н. Захарова, Д.В. Табаков: сбор и обработка материала.

Authors' contributions

G.G. Khakimova: sample collection and processing, statistical analysis, article writing;
T.N. Zabolina, A.A. Tryakin: development of study concept and design, article editing;
A.A. Borunova, T.V. Davydova, A.E. Kalinin, Yu.V. Vakhobova, E.N. Zakharova, D.V. Tabakov: sample collection and processing.

ORCID авторов/ORCID of authors

Г.Г. Хакимова/G.G. Khakimova: <https://orcid.org/0000-0002-4970-5429>
Т.Н. Заботина/T.N. Zabolina: <https://orcid.org/0000-0001-7631-5699>
А.А. Трякин/A.A. Tryakin: <https://orcid.org/0000-0003-2245-214X>
А.А. Борунова/A.A. Borunova: <https://orcid.org/0000-0001-5874-5804>
А.Е. Калинин/A.E. Kalinin: <https://orcid.org/0000-0001-7457-3889>
Е.Н. Захарова/E.N. Zakharova: <https://orcid.org/0000-0003-2790-6673>
Д.В. Табаков/D.V. Tabakov: <https://orcid.org/0000-0002-1509-2206>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Информированное согласие. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Informed consent. All patients gave written informed consent to participate in the study.