

DOI: 10.18 027 / 2224-5057-2019-9-1-29-37

Цитирование: Кутукова С. И., Беляк Н. П., Раскин Г. А., Манихас Г. М., Яременко А. И. и др. Системное воспаление и иммунологическое микроокружение в прогнозе течения солидных опухолей // Злокачественные опухоли 2019;9(1):29–37

## СИСТЕМНОЕ ВОСПАЛЕНИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКОЕ МИКРООКРУЖЕНИЕ В ПРОГНОЗЕ ТЕЧЕНИЯ СОЛИДНЫХ ОПУХОЛЕЙ

С. И. Кутукова<sup>1,2</sup>, Н. П. Беляк<sup>1,3</sup>, Г. А. Раскин<sup>3,4</sup>, Г. М. Манихас<sup>1,2</sup>, А. И. Яременко<sup>2</sup>, Ю. В. Иваськова<sup>1,2</sup>, С. С. Божор<sup>2</sup>

1. СПб ГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер», Санкт-Петербург, Россия. 2. ГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия. 3. ГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Медицинский факультет, Санкт-Петербург, Россия. 4. ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

### Резюме:

**Цель исследования.** изучить прогностическую значимость показателей системного воспаления периферической крови и относительных показателей: нейтрофильно-лимфоцитарное и тромбоцитарно-лимфоцитарное соотношение, на течение плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта и аденокарциномы желудка.

**Материалы и методы.** Произведен проспективный анализ больных плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта и диссеминированной аденокарциномой желудка. Были отобраны пациенты с верифицированным диагнозом, без признаков воспалительных заболеваний в анамнезе, не получающие антибактериальную и иммуномодулирующую терапию. В качестве основных оцениваемых параметров рассматривали общую выживаемость и выживаемость без прогрессирования.

**Результаты.** Критериям отбора соответствовали 32 больных диссеминированной аденокарциномой желудка и 60 больных плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта. Определена прогностическая ценность относительных показателей: общая выживаемость пациентов с аденокарциномой желудка с низким значением нейтрофильно-лимфоцитарного индекса достоверно выше, чем у остальной когорты пациентов: 16 месяцев против 8 и 7 месяцев (95% ДИ от 12 до 23 месяцев,  $p=0,0382$ ). Общая выживаемость пациентов с низким уровнем тромбоцитарно-лимфоцитарным индексом также была выше: 16 месяцев против 8 месяцев (95% ДИ от 11 до 24 месяцев,  $p=0,0026$ ). В группе больных плоскоклеточным раком головы и шеи достоверно отличалась безрецидивная выживаемость: у пациентов с низким значением показателя — 7 месяцев против 2 месяцев (95% ДИ от 5 до 9 месяцев,  $p=0,0499$ ).

**Выводы.** Полученные результаты говорят о возможности использования показателей иммунологического микроокружения опухоли и индексов, характеризующих системное воспаление, для прогнозирования течения аденокарцином желудка и плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта.

**Ключевые слова:** аденокарцинома желудка; плоскоклеточный рак слизистой оболочки полости рта; иммунологическое микроокружение; нейтрофильно-лимфоцитарный и тромбоцитарно-лимфоцитарные индексы.

### Актуальность вопроса

Злокачественная опухоль является крайне динамической системой, которую целесообразно рассматривать в комплексе со всеми клиническими и морфологическими составляющими, и формирующими ее микроокружение (клетки стромы, клетки системы иммунитета, кровеносные, лимфатические сосуды и экстрацеллюлярный матрикс), и определяющими общую реакцию организма пациента на развивающийся опухолевый процесс [2, 7].

Иммунная система и клетки, инфильтрирующие опухоль, являются объектом активного изучения [1, 4, 12], 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 их возможное диаметрально

противоположное действие: от активации путей противоопухолевой защиты до потенцирования прогрессирования заболевания.

Кроме того, в литературе встречаются данные, свидетельствующие о том, что хроническое воспаление является риском развития опухоли и ее прогрессирования [3].

Анализ 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 [9], раком желудка [5, 10] и гепатоцеллюлярным раком [6], что позволяет использовать эти показатели в клинической практике на этапе планирования комплексного лечения пациентов злокачественными новообразованиями, а также максимально рано выявлять признаки рецидива заболевания.

## Собственные исследования

## Материалы и методы

Нами произведено проспективное исследование с включением больных диссеминированной аденокарциномой желудка и плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта, проходившим лечение в СПб ГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер» в период с 2010 по 2015 год.

## Основные критерии включения пациентов в исследование:

1. Добровольное информированное согласие в письменной форме на участие в данном клиническом исследовании.
2. Возраст пациентов старше 18 лет.
3. Морфологическая верификация опухолей: аденокарцинома желудка или плоскоклеточный рак слизистой оболочки полости рта.

## Основные критерии исключения пациентов из исследования:

1. Наличие в анамнезе воспалительных заболеваний (в том числе признаков воспаления в опухоли и окружающих пространствах).
  2. Поддерживающая антибактериальная и иммуномодулирующая терапия на момент включения в исследование.
- Все пациенты с диссеминированной аденокарциномой желудка получали химиотерапевтическое лечение 1 линии в период с 2012 по 2015 год.

Всем пациентам с плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта проводилось лечение согласно существующим стандартам (I–II стадия — хирургическое лечение; III–IVa стадия — индукционная химиотерапия; IVb стадия — лекарственная терапия 1 линии).

На этапе исходной оценки всем пациентам был проведен стандартный комплекс обследований: физикальный осмотр, клинический и биохимический анализ крови (анализатор «Abbott Diagnostic», США: Cell-Dyn 3700 SL и Architect c8800), электрокардиограмма в 12-ти отведениях, компьютерная томография с целью уточнения распространенности опухолевого процесса. Все пациенты имели удовлетворительный общий статус, определенный по шкале ECOG — 1 балл.

## Методика расчета клинических факторов воспаления

С целью выявления прогностической ценности клинических маркеров воспаления нами был произведен расчет следующих соотношений (по результатам клинического анализа крови на этапе исходной оценки):

- 1) нейтрофильно-лимфоцитарный индекс (НЛИ), который рассчитывался как отношение абсолютного числа нейтрофилов к абсолютному числу лимфоцитов в периферической крови,
- 2) тромбоцитарно-лимфоцитарный индекс (ТЛИ), который рассчитывался как отношение абсолютного числа тромбоцитов к абсолютному числу лимфоцитов в периферической крови,
- 3) моноцитарно-лимфоцитарный индекс (только для группы пациентов с опухолями слизистой оболочки полости рта), который рассчитывался как отношение абсолютного числа

моноцитов к абсолютному числу лимфоцитов в периферической крови.

Методика определения нейтрофильной и эозинофильной инфильтрации опухоли и ее микроокружения, и иммуногистохимического исследования с целью выявления инфильтрации опухоли CD8 Т-лимфоцитами.

Выполнение иммуногистохимического исследования проводилось по стандартному протоколу: срезы с парафиновых блоков наносились на поли-L-лизиновые стекла с последующей инкубацией их при температуре 35–37 °С в условиях термостата для их плотного прикрепления. Затем выполнялась депарафинизация материала в ксилоле, отмывание в 96% и 70% этиловых спиртах и дистиллированной воде. После этого проводилась демаскировка антигенов при температуре 96 °С в буфере AntigenRetrievalSolution (DAKO), pH-9,0. Впоследствии выполнялись ингибирование эндогенной пероксидазы 3% перекисью водорода и инкубация первых антител (CD8 — DAKO, клон C8/144B, 1:100; p16ink4a — NeoMarkers, клон 16P04, 1:600); выявление процесса связывания антиген-антитело осуществлялось при помощи системы визуализации DakoEnVision и диаминобензидаина в качестве хромогена. Окрашивание ядер осуществлялось при помощи гематоксилина Майера.

Оценка результатов исследования осуществлялась с помощью светового микроскопа OlympusCX41, камера DP72. Подсчет количества нейтрофилов и эозинофилов осуществлялся на препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, CD8-позитивных Т-лимфоцитов — на препаратах, окрашенных иммуногистохимическим способом. Количество клеток подсчитывалось на 1 мм<sup>2</sup> (5 полей зрения при увеличении X400, окуляре WHB10X/20) двумя способами: только в опухолевой ткани и в опухолевой ткани и прилежащей строме, однако опухоль должна была занимать не менее 50% поля зрения. Оценка иммуногистохимического исследования p16ink4a осуществлялась путем подсчета позитивных клеток относительно 2000 злокачественных клеток, и в случае ограниченности материала процент позитивных клеток высчитывался относительно всех опухолевых клеток на срезе.

## Основные оцениваемые параметры

Основными конечными точками в данном исследовании были общая выживаемость и безрецидивная выживаемость.

Общая выживаемость определялась как время от момента постановки диагноза злокачественной опухоли желудка или слизистой оболочки полости рта до момента смерти пациента от любой причины либо до даты последнего контакта с больным.

Безрецидивная выживаемость определялась как время от момента наступления ремиссии заболевания на фоне проводимого лечения до времени регистрации рецидива.

Анализ выживаемости проводился с использованием процедуры Каплана-Майера, а сравнение кривых выживаемости — с использованием log-rank теста. Медиана общей выживаемости рассчитывалась с двусторонним 95% доверительным интервалом (ДИ).

Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась с помощью программ статистических пакетов STATISTICA, ver. 12.0, MedCalc, ver. 18.11.6, PASS 11, ver. 11.0.7, Microsoft Excel 2010.

## Результаты исследования

### Группа пациентов с аденокарциномой желудка

Под нашим наблюдением находилось 32 пациента с диссеминированным раком желудка, 25 мужчин и 7 женщин, в возрасте от 28 до 75 лет (медиана возраста 60,5 лет (95% ДИ от 55 до 65 лет)). У 18 (56,25%) пациентов первичная опухоль локализовалась в области тела желудка, у 7 (21,875%) — в кардиальном отделе, еще у 7 (21,875%) — в выходном отделе желудка. У 10 больных (31,25%) первичная опухоль была удалена, 22 пациента (68,75%) имели неудаленную опухоль желудка. Только у 7 пациентов (21,875%) метастатическое поражение было зарегистрировано в одном органе (печень, легкие, брюшина), у 25 (71,125%) диссеминация затрагивала несколько областей (печень, легкие, брюшина, яичники, висцеральные и забрюшинные лимфатические узлы). При морфологическом обследовании у всех больных верифицирована аденокарцинома: у 22 пациентов (68,75%) опухоль имела низкую дифференцировку, причем в 7 образцах (31,82%) обнаружены перстневидные опухолевые клетки.

### Группа пациентов с плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта

Под нашим наблюдением находились 60 пациентов, 37 мужчин и 23 женщины, в возрасте от 42 до 82 лет, медиана возраста составила 59 лет (95% ДИ от 57 до 65 лет). Все пациенты проходили лечение в СПб ГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер» по поводу верифицированного плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта с 2010 года по 2015 год.

У 26 (43,33%) больных первичный опухолевый очаг локализовался на слизистой оболочке передней и средней трети языка, у 13 (21,67%) — на слизистой оболочке дна полости рта, у 4 пациента (6,67%) отмечено поражение задней трети или корня языка и альвеолярной части нижней челюсти; слизистая оболочка щеки являлась первичным очагом у 3 (5,00%) пациентов, у 2 пациентов 3,33% обнаружена опухоль слизистой оболочки ретромолярной области. По 1 пациенту (1,66%) имели первичные поражения слизистой оболочки альвеолярного отростка верхней челюсти, прежней небной дужки, боковой стенки глотки, твердого неба, слизистой оболочки крыло-челюстной складки и слизистой верхнечелюстной пазухи.

После проведенного стандартного обследования была определена стадии заболевания, при этом ни одного случая диссеминированного процесса не зарегистрировано. I стадия заболевания установлена у 3 (5,0%) пациентов, II — у 7 (11,8%), III стадия — у 8 (13,2%) и IV — у 42 (70,0%) больных (IVA — 37, IVB — 5 пациентов).

Согласно проведенному морфологическому исследованию, 23 (38,33%) пациентов имели высокодифференцированные опухоли, 15 (25,00%) — умереннодифференцированные, и 5 (8,33%) — низ-

кодифференцированные; у 17 (28,33%) больных степень дифференцировки опухоли не определена. В 27 (45,0%) образцах из 60 выявлены признаки ороговения, в 16 (26,7%) они отсутствовали, в 2 (3,3%) образцах имелись признаки частичного ороговения, а в остальных 15 (25,0%) ороговение не определено.

## Исследование иммунологического микроокружения опухоли

### Группа пациентов с аденокарциномой желудка

При ИГХ-исследовании у пациентов данной группы получены следующие результаты.

Показатель нейтрофильного звена микроокружения варьировал в пределах от 0 до 112 клеток в кв.мм. (8 стандартных полей зрения): средний показатель составил  $50,00 \pm 32,88$ .

Эозинофильный компонент варьировал в пределах от 0 до 10 клеток в мм<sup>2</sup>. Среднее количество эозинофилов составило  $6,67 \pm 3,33$  клеток.

Частота CD8-положительных клеток колебалась в пределах от 26 до 380 клеток/мм<sup>2</sup>, средний показатель составил  $198,67 \pm 102,28$ .

### Группа пациентов с плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта

Показатель нейтрофильного звена в опухоли и в непосредственном микроокружении варьировал в пределах от 5 до 1050 клеток в мм<sup>2</sup> (8 стандартных полей зрения); средний показатель в опухоли составил  $101,33 \pm 21,77$ , в микроокружении —  $175,72 \pm 29,01$ .

Эозинофильный компонент в опухоли и в непосредственном микроокружении варьировал в пределах от 0 до 872 клеток в мм<sup>2</sup> (8 стандартных полей зрения), причем столь высокий уровень эозинофильной инфильтрации был выявлен только у одного пациента из 60; средний показатель в опухоли составил  $16,19 \pm 10,72$ , в микроокружении —  $37,29 \pm 17,79$ .

Экспрессия CD8 колебалась в пределах от 3 до 1380 клеток/мм<sup>2</sup>; средний показатель в опухоли составил  $144,14 \pm 21,87$ , в микроокружении —  $451,02 \pm 42,90$ .

Полученные результаты представлены в таблице 1.

## Исследование факторов воспаления

### Группа пациентов с аденокарциномой желудка

Уровень нейтрофилов периферической крови пациентов варьировал в пределах от 1,63 до  $13,80 \times 10^9$ /л, средний показатель составил  $5,43 \pm 0,52 \times 10^9$ /л.

Таблица 1. Результаты анализа иммунологического микроокружения опухоли

	Микроокружение опухоли		
	Нейтрофильное звено (количество клеток)	Эозинофильное звено (количество клеток)	CD-8-положительные клетки (количество клеток)
Аденокарцинома желудка	$50,00 \pm 32,88$ (0 – 112)	$6,67 \pm 3,33$ (0 – 10)	$198,67 \pm 102,28$ (26 – 380)
Плоскоклеточный рак слизистой оболочки полости рта	$101,33 \pm 21,77$ (5 – 1050)	$6,19 \pm 10,72$ (0 – 872)	$144,14 \pm 21,87$ (3 – 1380)

## Собственные исследования

Уровень тромбоцитов периферической крови пациентов варьировал в пределах от 163,00 до 737,00 × 10<sup>9</sup>/л, средний показатель составил 346,56 ± 23,58 × 10<sup>9</sup>/л.

Уровень лимфоцитов периферической крови пациентов варьировал в пределах от 0,81 до 3,32 × 10<sup>9</sup>/л, средний показатель составил 1,88 ± 0,12 × 10<sup>9</sup>/л.

Расчет относительных индексов продемонстрировал следующие результаты.

Нейтрофильно-лимфоцитарный индекс варьировал в пределах от 0,82 до 15,06, средний его показатель составил 3,42 ± 0,49 × 10<sup>9</sup>/л.

Тромбоцитарно-лимфоцитарный индекс варьировал в пределах от 72,00 до 535,30, средний его показатель составил 208,59 ± 20,44.

**Группа пациентов с плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта**

Уровень нейтрофилов периферической крови пациентов варьировал в пределах от 1,75 до 10,51 × 10<sup>9</sup>/л, средний показатель составил 4,53 ± 0,26 × 10<sup>9</sup>/л.

Уровень тромбоцитов периферической крови пациентов варьировал в пределах от 144,00 до 653,00 × 10<sup>9</sup>/л, средний показатель составил 305,35 ± 14,02 × 10<sup>9</sup>/л.

Уровень моноцитов периферической крови пациентов варьировал в пределах от 0,05 до 1,05 × 10<sup>9</sup>/л, средний показатель составил 0,52 ± 0,03 × 10<sup>9</sup>/л.

Уровень лимфоцитов периферической крови пациентов варьировал в пределах от 0,84 до 3,83 × 10<sup>9</sup>/л, средний показатель составил 2,15 ± 0,09 × 10<sup>9</sup>/л.

Расчет относительных индексов показал следующие результаты.

Нейтрофильно-лимфоцитарный индекс варьировал в пределах от 0,65 до 7,22, средний его показатель составил 2,34 ± 0,18.

Тромбоцитарно-лимфоцитарный индекс варьировал в пределах от 55,03 до 428,10, средний его показатель составил 155,70 ± 10,12.

Попытка выявить корреляционные зависимости между иммунологическим опухолевым окружением (инфильтрация опухоли и микроокружения нейтрофилами, эозинофилами, экспрессия CD8 Т-лимфоцитами) и показателями периферической крови не удалась, что свидетельствует о том, что эти факторы могут являться самостоятельными и независимыми прогностическими маркерами.

Полученные результаты представлены в таблице 2.

**Оценка выживаемости**

С целью оценки влияния факторов воспаления на выживаемость нами была произведена оценка влияния рассматриваемых параметров на общую и безрецидивную выживаемость пациентов обеих групп.

**Группа пациентов с аденокарциномой желудка**

Медиана общей выживаемости пациентов с аденокарциномой желудка составила 13 месяцев (95% ДИ от 10 до 21 месяца).

Достоверной зависимости общей выживаемости от инфильтрации опухоли и ее микроокружения нейтрофилами, эозинофилами и CD8 Т-лимфоцитами в данной когорте пациентов выявлено не было (p>0,05).

Проведен многофакторный анализ с построением модели Кокса. Помимо исследуемых факторов в данную модель были включены демографические характеристики пациентов (пол, возраст), а также такие характеристики опухолевого процесса, как локализация первичной опухоли, стадия процесса и дифференцировка опухоли.

Вероятность влияния экспрессии CD8 на общую выживаемость составила 0,57 (95% ClofExp (b) от 0,96 до 1,03), вероятность влияния нейтрофильного компонента — 0,87 (95% ClofExp (b) от 0,98 до 1,01), а эозинофильного — 0,25 (95% ClofExp (b) от 0,95 до 1,13). Общий уровень значимости модели Кокса составил p=0,65.

Столь низкая значимость исследуемых показателей связана, по всей видимости, с малым объемом выборки, что говорит о необходимости дальнейшего исследования.

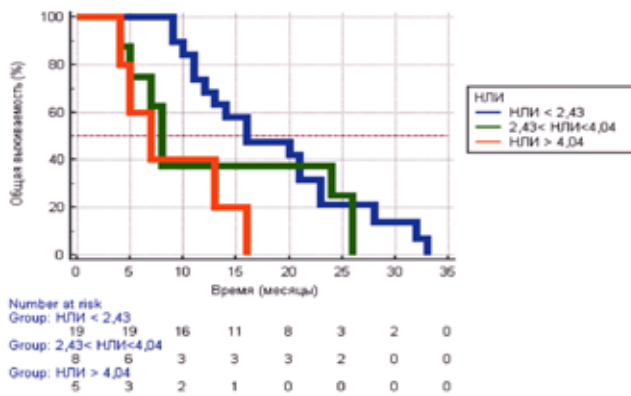
С целью оценки прогностической ценности нейтрофильно-лимфоцитарного и тромбоцитарно-лимфоцитарного индексов на общую выживаемость нами были использованы средние значения данных индексов как минимальные пороговые значения (2,43 для НЛИ и 166,91 для ТЛИ); максимальным пороговым значением для НЛИ было выбрано максимальное значение 95% порогового интервала (4,04 для НЛИ).

Общая выживаемость пациентов у пациентов с низким показателем нейтрофильно-лимфоцитарного индекса (<2,43) составила 16 месяцев (95% ДИ от 12 до 23 месяцев), что достоверно (p=0,0382) отличается от выживаемости пациентов в группе умеренного (2,43–4,04) показателя НЛИ, где она составила 8 месяцев (95% ДИ от 5 до 26 месяцев), и группы высокого НЛИ (> 4,04), где она составила 7 месяцев (95% ДИ от 4 до 16 месяцев) (рис. 1).

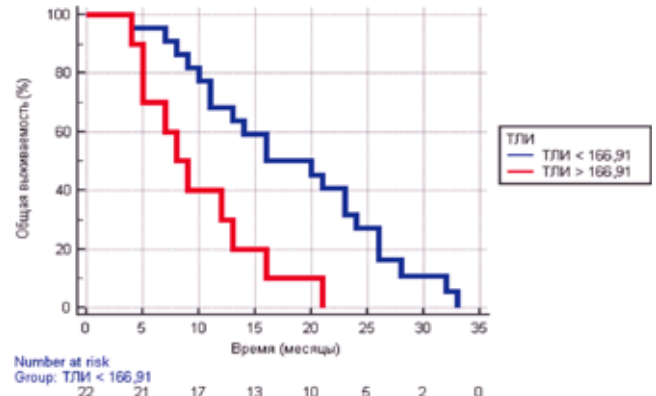
Анализ влияния тромбоцитарно-лимфоцитарного индекса на общую выживаемость пациентов аденокарциномой желудка также позволил выявить достоверно более высокий показатель выживаемости пациентов с низким уровнем ТЛИ на этапе исходной оценки (p=0,0026). Общая выживаемость больных с низким показателем ТЛИ (< 166,91) составила 16 месяцев (95% ДИ от 11 до 24 месяцев), а у пациентов с уровнем ТЛИ>166,91–8 месяцев (95% ДИ от 5 до 13 месяцев) (рис. 2).

Таблица 2. Результаты анализа клинических маркеров воспаления

	Показатели периферической крови			Относительные индексы	
	Нейтрофилы (10 <sup>9</sup> /л)	Тромбоциты (10 <sup>9</sup> /л)	Лимфоциты (10 <sup>9</sup> /л)	НЛИ	ТЛИ
Аденокарцинома желудка	5,43 ± 0,52 (1,63-13,80)	346,56 ± 23,58 (163,00-737,00)	1,88 ± 0,12 (0,81-3,32)	3,42 ± 0,49 (0,82-15,06)	208,59 ± 20,44 (72,00-535,30)
Плоскоклеточный рак слизистой оболочки полости рта	4,53 ± 0,26 (1,75-10,51)	305,35 ± 14,02 (144,00-653,00)	2,15 ± 0,09 (0,84-3,83)	2,34 ± 0,18 (0,65-7,22)	155,70 ± 10,12 (55,03-428,10)



**Рисунок 1.** Общая выживаемость пациентов с аденокарциномой желудка в зависимости от уровня нейтрофильно-лимфоцитарного соотношения.



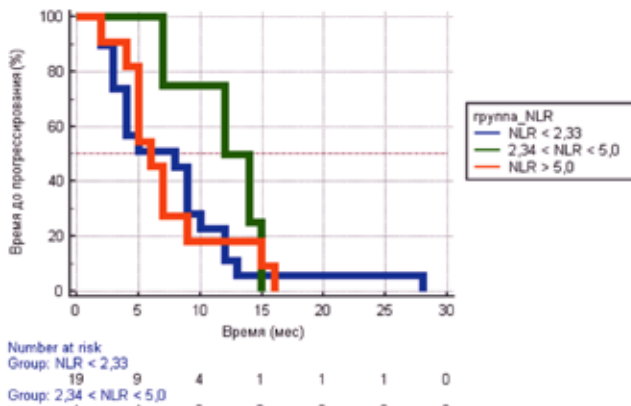
**Рисунок 2.** Общая выживаемость пациентов с аденокарциномой желудка в зависимости от уровня тромбоцитарно-лимфоцитарного соотношения.

### Группа пациентов с плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта

Нами была оценена общая и безрецидивная выживаемость пациентов с использованием модели Карлап-Меер: медиана общей выживаемости составила 8 месяцев (95% CI от 7,000 до 12,000); медиана времени до прогрессирования составила 6 месяцев (95% CI от 4,000 до 9,000).

Нами был проведен многофакторный анализ влияния количественных показателей наличия нейтрофилов, эозинофилов и экспрессии CD8 на общую и безрецидивную выживаемость с использованием модели Кокса. Помимо исследуемых факторов в данную модель также были включены демографические характеристики пациентов (пол, возраст), а также такие характеристики опухолевого процесса, как локализация первичной опухоли, стадия процесса, дифференцировка опухоли и степень ороговения.

Достоверных влияний пока не было выявлено, что, вероятнее всего, связано с малым объемом выборки, однако о тенденции к влиянию на общую выживаемость говорить можно, это подтверждает прогностическую ценность этих показателей.



**Рисунок 3.** Выживаемость без прогрессирования больных плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта в зависимости от уровня нейтрофильно-лимфоцитарного соотношения.

Вероятность влияния экспрессии CD8 на общую выживаемость составила  $p=0,08$  (95% ClofExp (b) от 0,84 до 1,01), вероятность влияния нейтрофильного компонента —  $0,07$  (95% ClofExp (b) от 0,91 до 1,01), а эозинофильного —  $0,12$  (95% ClofExp (b) от 0,98 до 1,00). Общий уровень значимости модели Кокса —  $p=0,08$ .

Вероятность влияния на время до прогрессирования оказалась малозначительна: значимость экспрессии CD8 составила  $p=0,29$  (95% ClofExp (b) от 0,96 до 1,00), вероятность влияния нейтрофильного компонента —  $p=0,72$  (95% ClofExp (b) от 0,98 до 1,01), а эозинофильного —  $p=0,08$  (95% ClofExp (b) от 0,84 до 1,06). Общий уровень значимости модели Кокса составил  $p=0,17$ .

Для оценки прогностической ценности НЛИ, МЛИ и ТЛИ на общую выживаемость мы использовали пороговые значения данных индексов: как минимальные значения были выбраны 2,33 для НЛИ, 5,28 для МЛИ и 155,70 для ТЛИ; максимальным пороговым значением для НЛИ было выбрано значение 5,0.

Медиана общей выживаемости пациентов с низким показателем нейтрофильно-лимфоцитарного индекса ( $< 2,43$ ) составила 55 месяцев (95% ДИ от 41 до 58 месяцев), что отличается ( $p=0,08$ ) от выживаемости пациентов в группе умеренного ( $2,43-5,0$ ) и высокого ( $> 5,0$ ) показателя НЛИ, где она достигнута не была, но среднее значение составило  $21,8 \pm 3,76$  (95% ДИ от 14,44 до 29,16), а также от группы высокого уровня НЛИ, где медиана общей выживаемости также еще не достигнута, среднее значение составило  $17,72 \pm 1,21$  (95% ДИ от 15,35 до 20,11).

Медиана времени до прогрессирования пациентов у пациентов с умеренным показателем нейтрофильно-лимфоцитарного индекса ( $2,43-5,0$ ) составила 12 месяцев (95% ДИ от 7 до 15 месяцев), что отличается ( $p=0,07$ ) от выживаемости пациентов в группе низкого ( $< 2,43$ ) и высокого ( $> 5,0$ ) показателя НЛИ, где она составила 8 месяцев (95% ДИ от 4 до 9 месяцев) и 6 месяцев (95% ДИ от 5 до 9 месяцев), соответственно (рис. 3).

Влияние тромбоцитарно-лимфоцитарного индекса (ТЛИ) на общую выживаемость и время до прогрессирования также демонстрирует связь рассматриваемых показателей с выживаемостью больных плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта. Медиана общей выживаемости была достигнута только в группе с низким уровнем ТЛИ ( $< 155,70$ ) и составила 55 месяцев, а в группе высокого ТЛИ в среднем общая выживаемость составляет на сегодняшний момент 6 месяцев. Подобные разли-

## Собственные исследования

чия, вероятно, связаны с малочисленностью группы пациентов, имеющих исходно низкий уровень ТЛИ.

Медиана времени до прогрессирования у пациентов с низким уровнем соотношения абсолютного числа тромбоцитов к абсолютному числу нейтрофилов ( $<155,70$ ) составила 7 месяцев (95% ДИ от 5 до 9 месяцев), достоверно отличаясь от таковой у больных с высоким показателем ТЛИ — 2 месяца (95% ДИ от 2 до 5 месяцев) ( $p=0,0499$ ), что может свидетельствовать о прогностической значимости данного показателя для выявления ранних признаков рецидивирования процесса (рис. 4).

Показатель моноцитарно-лимфоцитарного индекса не показал значимого влияния на показатели общей и безрецидивной выживаемости.

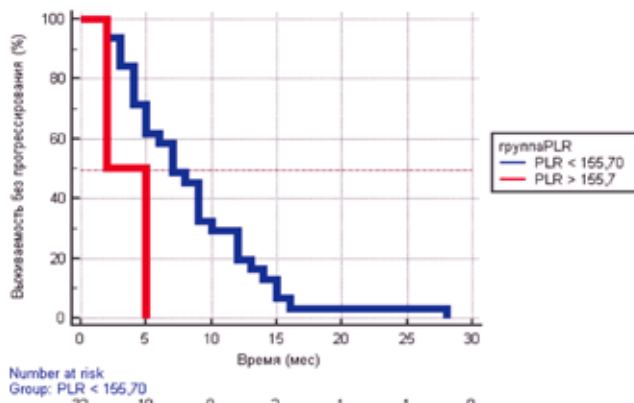
## Обсуждение

Проведенное нами исследование демонстрирует, что рассмотренные солидные опухоли являются весьма гетерогенными по данным морфологического анализа лимфоцитов, инфильтрирующей опухоль и ее непосредственное микроокружение, причем плоскоклеточный рак слизистой оболочки полости рта является более насыщенным инфильтрирующими CD8 Т-лимфоцитами, поскольку количественный показатель инфильтрации значительно превышает аналогичный показатель в аденокарциномах желудка.

Кроме того, проведенный нами анализ позволил предположить прогностическую ценность количественного определения элементов иммунологического микроокружения опухолей (особенно плоскоклеточного рака головы и шеи), поскольку показал значимое влияние экспрессии CD8 Т-лимфоцитов, нейтрофилов и эозинофилов на клиническое течение заболевания и степень ответа на проводимую терапию.

Индексы нейтрофильно-лимфоцитарного и тромбоцитарно-лимфоцитарного соотношений, предположительно, могут являться информативными факторами прогноза течения вышеуказанных опухолевых процессов в связи с обнаруженным их влиянием на общую выживаемость пациентов. К аналогичному выводу пришли и некоторые зарубежные исследователи. Так, по данным М. Mori с соавторами, повышение значения нейтрофильно-лимфоцитарного индекса у пациентов с аденокарциномой желудка, получавших адъювантную химиотерапию, является фактором неблагоприятного прогноза, влияющим как на общую, так и на безрецидивную выживаемость [8].

Нейтрофильно-лимфоцитарное соотношение может быть достоверным прогностическим маркером выявления раннего рецидива плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта. Мета-анализ 25 исследований с включением 6847 больных плоскоклеточным раком органов головы и шеи, проведенный L. Yang с соавторами, показал высоко достоверную негативную прогностическую значимость нейтрофильно-лимфоцитарного индекса на общую и безрецидивную выживаемость у пациентов данной когорты, тогда как тромбоцитарно-лимфоцитарный индекс подобной значимостью не обладает [14]. В своей работе W. Yu с соавторами также говорит о том, что высокий показатель нейтрофильно-лимфоцитарного индекса может служить независимым неблагоприятным фактором, ассоциированным с более высоким риском рецидива заболевания у пациентов с опухолями головы и шеи; однако, в этой работе достоверной ассоциации риска рецидивирования и влияния тромбоцитарно-лимфоцитарного индекса на общую выживаемость выявлено не было [15]. Данный факт подтвержден и нашим исследованием.



**Рисунок 4.** Выживаемость без прогрессирования пациентов с плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта в зависимости от уровня тромбоцитарно-лимфоцитарного соотношения.

J. Wen с соавторами, проанализировав данные 723 пациентов с аденокарциномой желудка или желудочно-пищеводного соединения, показали, что именно повышенный показатель тромбоцитарно-лимфоцитарного индекса является достоверным фактором прогноза течения заболевания, оказывающим влияние как на общую, так и на безрецидивную выживаемость [13]. К подобному выводу пришли и Y. Takenaka с соавторами, проанализировав данные 17 исследований (всего 6423 больных): повышенный уровень тромбоцитов и высокий тромбоцитарно-лимфоцитарный индекс являются факторами неблагоприятного прогноза, влияющими на общую выживаемость пациентов с плоскоклеточным раком органов головы и шеи [11].

Таким образом, необходимо проведение более крупных проспективных исследований для однозначного определения значимости данных индексов в прогностических моделях аденокарцином желудка и плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта.

## Заключение

Полученные нами результаты соответствуют большинству данных аналогичных исследований, проведенных в мировых онкологических центрах, и говорят о возможности использования показателей иммунологического микроокружения опухоли и индексов, характеризующих системное воспаление, для прогнозирования течения аденокарцином желудка и плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта.

## Информация об авторах

**Светлана И. Кутукова**, к.м.н., врач-онколог химиотерапевтического отделения № 11 СПб ГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер», Санкт-Петербург, Россия, доцент каф. стоматологии хирургической и челюстно-лицевой хирургии ГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: dr.s.kutukova@gmail.com.

**Наталья П. Беляк**, к.м.н., врач-онколог химиотерапевтического отделения № 11 СПб ГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер», Санкт-Петербург, Россия

**Григорий А. Раскин**, д.м.н., руководитель лаборатории иммуногистохимии ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А. М. Гранова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

**Георгий М. Манихас**, член-корреспондент РАЕН, главный врач ГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер» г. Санкт-Петербург, Россия

**Андрей И. Яременко**, д.м.н., проф., заведующий кафедрой хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии ПСПбГМУ им. И. П. Павлова, г. Санкт-Петербург, Россия

**Юлия В. Иваськова**, врач-онколог СПб ГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер», Санкт-Петербург, Россия

**Светлана С. Божор**, ассистент кафедры Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

DOI: 10.18027/2224-5057-2019-9-1-29-37

For citation: Kutukova S. I., Belyak N. P., Raskin G. A., Manikhas G. M., Yaremenko A. I., Ivaskova Yu. V., Bozhor S. S. Systemic inflammation and immunological microenvironment in prognosis of solid tumors. *Malignant Tumours* 2019;9(1):29–37 (In Russ.)

## SYSTEMIC INFLAMMATION AND IMMUNOLOGICAL MICROENVIRONMENT IN PROGNOSIS OF SOLID TUMORS

S. I. Kutukova<sup>1,2</sup>, N. P. Belyak<sup>1,3</sup>, G. A. Raskin<sup>3,4</sup>, G. M. Manikhas<sup>1,2</sup>, A. I. Yaremenko<sup>2</sup>, Yu. V. Ivaskova<sup>1,2</sup>, S. S. Bozhor<sup>2</sup>

1. Municipal Clinical Oncology Dispensary, St. Petersburg, Russia. 2. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia. 3. Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia. 4. Russian Scientific Center of Radiology and Surgical Technologies, St. Petersburg, Russia

### Abstract:

**The purpose of the research.** To study prognostic significance of indicators of systemic inflammation of peripheral blood and relative indicators: neutrophil-lymphocytic and platelet-lymphocytic ratio, the course of squamous cell carcinoma of the oral mucosa and gastric adenocarcinoma.

**Materials and methods.** Prospective analysis of patients with squamous cell carcinoma of the oral mucosa and disseminated gastric adenocarcinoma was performed. Patients with verified diagnosis, without signs of inflammatory diseases in anamnesis, not receiving antibacterial and immunomodulatory therapy were selected. Overall survival and survival without progression were considered as the main estimated parameters.

**Results.** The selection criteria were met by 32 patients with disseminated gastric adenocarcinoma and 60 patients with squamous cell carcinoma of the oral mucosa. The prognostic value of relative indicators is determined: overall survival of patients with gastric adenocarcinoma with a low value of the neutrophil-lymphocytic index is significantly higher than that of the rest of the cohort of patients: 16 months vs. 8 and 7 months (95% CI (confidence interval) from 12 to 23 months,  $p=0.0382$ ). Overall survival of patients with low platelet-lymphocytic index was also higher: 16 months vs. 8 months (95% CI from 11 to 24 months,  $p=0.0026$ ). Different relapse-free survival was noted in the group of patients with squamous cell head and neck cancer: patients with low index value it is 7 months vs. 2 months (95% CI from 5 to 9 months,  $p=0.0499$ ).

**Conclusions.** The results show the possibility of using immunological microenvironment of the tumor and indices, characterizing the systemic inflammation, for prognosis of gastric adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the oral mucosa.

## Собственные исследования

**Key words:** gastric adenocarcinoma, squamous cell carcinoma of the oral mucosa, immunological microenvironment, neutrophil-lymphocytic and platelet-lymphocytic indices.

## Information about the authors

**Svetlana I. Kutukova**, MD, PhD, oncologist of the chemotherapy department № 11 St. Petersburg State Budgetary Healthcare Facility City Clinical Oncology Center, Saint-Petersburg, Russia associate professor of dental and maxillofacial surgery The First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, St. Petersburg, Russia, e-mail: dr.s.kutukova@gmail.com.

**Natalia P. Belyak**, MD, PhD, chemotherapy department № 11, St. Petersburg State Budgetary Healthcare Facility City Clinical Oncology Center, St. Petersburg, Russia

**Grigory A. Raskin**, MD, PhD, DSc, professor of the Department of Oncology of the Faculty of Medicine, Saint Petersburg State University, Head of the Department of Pathology, Russian Research Center for Radiology and Surgical Technologies named after Academician A. M. Granov, St. Petersburg, Russia

**Georgy M. Manikhas**, corresponding member of the Russian Academy of Natural Sciences, chief doctor of St. Petersburg State Budgetary Healthcare Facility City Clinical Oncology Center, St. Petersburg, Russia

**Andrey I. Yaremenko**, MD, PhD, DSc, professor, head of dental and maxillofacial surgery of State Budgetary Educational Facility of Higher Education "The First Pavlov State Medical University of St. Petersburg" of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia

**Yulia V. Ivaskova**, oncologist of St. Petersburg State Budgetary Healthcare Facility City Clinical Oncology Center, St. Petersburg, Russia

**Svetlana S. Bozhor**, assistant The First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, St. Petersburg, Russia

## Литература / Reference

1. Бережная Н. М. Взаимодействие клеток системы иммунитета с другими компонентами микроокружения // Онкология. 2009 г Т.1, № 2. Стр 86-93.
2. Balch C., Riley L., Bae T. Salmeron M. A., Platsoucas C. D., Itoh K. Patterns of human tumor infiltrating lymphocytes in 120 human cancers // Arch. Surg. 1990. Vol.125 (2). P.200-205.
3. Berezhnaya N. M. Vzaimodistvie kletok sistemi immuniteta s drugimi componentami microokrugeniya // Oncologia. 2009 T.1, № 2. Str 86-93
4. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. Nature 2002; 420 (6917):860-7
5. Galon J., Pages F., Marincola F. M., Angell H. K. et al. Cancer classification using the immunoscore: a worldwide task force. J. Transl Med 10: 205, 2012 /
6. Gunaldi M, Goksu S, Erdem D, Gunduz S, Okuturlar Y, Tiken E, et al. Prognostic impact of platelet /lymphocyte and neutrophil /lymphocyte ratios in patients with gastric cancer: a multicenter study. Int J ClinExp Med. 2015;8 (4):5937-42.
7. Hu B, Yang XR, Xu Y, Sun YF, Sun C, Guo W, et al. Systemic immune-inflammation index predicts prognosis of patients after curative resection for hepatocellular carcinoma. Clin Cancer Res. 2014;20 (23):6212-22. doi:10.1158 / 1078-0432. CCR-14-0442.
8. Mantovani A., Sica A. Tumor immunity: effector response to tumor and role of the microenvironment. Lancet 2008; 371 (9614):771-83.
9. Mori M., Shuto K., Kosugi C., Narushima K., Hayashi H., Matsubara H., Koda K. 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 Dec 17;18 (1):1261. doi: 10.1186 / s12885-018-5171-2.
10. Passardi A, Scarpi E, Cavanna L, Dall'Agata M, Tassinari D, Leo S, 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.
11. Shimada H, Takiguchi N, Kainuma O, Soda H, Ikeda A, Cho A, et al. High preoperative neutrophil-lymphocyte ratio predicts poor survival in patients with gastric cancer. Gastric Cancer. 2010;13 (3):170-6. doi:10.1007 / s10120-010-0554-3.



12. Takenaka Y., Oya R., Kitamiura T., Ashida N., Shimizu K., Takemura K., Yamamoto Y., Uno A. Platelet count and platelet-lymphocyte ratio as prognostic markers for head and neck squamous cell carcinoma: Meta-analysis // *Head Neck*. 2018 Dec;40 (12):2714-2723. doi: 10.1002/hed.25366.
13. Tupicin N. N. Immunofenotiprakamolochnoizhelezi // *Rakmolochnoizhelesi/Pod red. N. E. Kushlinskogo, S. M. Portnogo, K. G. Laktionova.* – М.:Izdatelstvo RAMN, 2005. – Str.174-197.
14. Wen J., Bedford M., Begum R., Mitchell H., Hodson J., Whiting J., Griffiths E. The value of inflammation based prognostic scores in patients undergoing surgical resection for oesophageal and gastric carcinoma // *J Surg Oncol*. 2018 Jun;117 (8):1697-1707. doi: 10.1002/jso.25057
15. Yang L., Huang Y., Zhou L., Dai Y., Hu G. High pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio as a predictor of poor survival prognosis in headand neck squamous cell carcinoma: A systematic review and meta-analysis // *Head Neck*. 2018 Dec 30. doi: 10.1002/hed.25583.
16. Yu W., Dou Y., Wang K., Liu Y., Sun J., Gao H., Liu S., Wei F., Yuan D., Song X., Qu X. Preoperative neutrophil lymphocyte ratio but not platelet lymphocyte ratio predicts survival and early relapse in patients with oral, pharyngeal, and lip cancer // *Head Neck*. 2019 Jan 11. doi: 10.1002/hed.25580