ТКАНЕВЫЙ ПУЛ ГИПЕРСЕГМЕНТИРОВАННЫХ НЕЙТРОФИЛОВ У ПАЦИЕНТОВ С ПРЕДОПУХОЛЕВЫМИ И ОПУХОЛЕВЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ГОРТАНИ И ГОРТАНОГЛОТКИ

Кологривова Е. Н.¹,

Плешко Р. И.¹,

Черемисина О. В.²,

Болдышевская М. А.²,

Геренг Е. А.¹,

Насибов Т. Ф.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Томск, Россия.

² Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия.

**TISSUE POOL OF HYPERSEGMENTED NEUTROPHILS IN PATIENTS
WITH PRECANCEROUS AND TUMOR DISEASES OF THE LARYNX
AND LARYNGOPHARYNX**

Kologrivova E. N. ^a,

Pleshko R. I. ^a,

Cheremisina O. V. ^b,

Boldyshevskaya M. A. ^b,

Gereng E. A. ^a,

Nasibov T. F. ^a

^a Siberian State Medical University.

^b Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia).

Резюме

Присутствие нейтрофилов в опухоли часто коррелирует с неблагоприятным прогнозом, однако до сих пор нет однозначного ответа о роли опухоль-ассоциированных нейтрофилов и о связи их морфофункциональных особенностей с прогнозом течения заболевания. Целью исследования была оценка структурных особенностей ядер тканевых нейтрофилов в зоне патологического процесса у больных с предопухолевыми изменениями и злокачественными новообразованиями в области гортани. Обследованы 8 человек с предопухолевыми изменениями гортани, 18 пациентов с локализованным раком гортани (II и III стадии опухолевого процесса и отсутствие метастазов - T₂₋₃N₀M₀) и 12 пациентов с распространенным раком (III стадия опухолевых заболеваний и регионарные метастазы - T₃N₁₋₂M₀). Исследовали мазки гепаринизированной венозной крови и мазки-отпечатки тканевых биоптатов из трех локализаций: 1 - зоны патологического очага; 2 - границы между патологическим очагом и условно здоровой тканью; 3 - условно здоровой ткани. В крови больных с предопухолевыми изменениями гортани и больных раком число гиперсегментированных форм (5 и более сегментов) было выше, чем в крови условно здоровых добровольцев (p<0,002). В мазках биоптатов из разных зон патологического очага у больных с предраками и злокачественными новообразованиями выявлены однотипные изменения: по мере приближения к патологическому очагу наблюдалось увеличение содержания клеток, ядра которых имеют 4-5 и более сегментов, а содержание гиперсегментированных форм было максимальным в патологическом очаге. Только у пациентов с распространенным опухолевым процессом нейтрофилы с 4х-сегментным ядром доминировали в ближайшем окружении опухоли, и отмечалась тенденция к снижению содержания слабо сегментированных нейтрофилов вокруг опухоли. Таким образом, на этапе предопухолевых изменений, а также на ранних стадиях развития опухоли в отсутствие регионарных метастазов, состав тканевых пулов нейтрофилов на границе патологического очага и в неизменной ткани совпадает по своим морфологическим характеристикам. По мере распространения опухоли и формирования метастазов в популяции внутри-опухолевых нейтрофилов увеличивается доля гиперсегментированных клеток. Весьма вероятно, что морфологические особенности тканевых нейтрофилов в разных зонах патологического очага отражают их функциональную гетерогенность, а гиперсегментация ядер может рассматриваться в качестве потенциального предиктора развития и прогрессирования опухолевого процесса.

Ключевые слова: нейтрофилы крови, тканевые нейтрофилы, гиперсегментация ядер, предопухолевые заболевания гортани, локализованный рак гортани, распространенный рак гортани.

Abstract

The presence of neutrophils in a tumor often correlates with an unfavorable prognosis, however, there is still no clear answer about the role of tumor-associated neutrophils and the relationship of their morphofunctional features with the prognosis of the course of the disease. The aim of the study was to evaluate the structural features of tissue neutrophil nuclei in the pathological zone in patients with precancerous changes and malignant neoplasms in the larynx. 8 people with precancerous changes in the larynx, 18 patients with localized cancer of the larynx (stages II and III of the tumor process and the absence of metastases - T2-3N0M0) and 12 patients with advanced cancer (stage III of tumor diseases and regional metastases - T3N1-2M0) were examined. Blood slides and smear prints of tissue biopsies from three localizations were examined: 1 - zones of the pathological focus; 2 - boundaries between the pathological focus and conditionally healthy tissue; 3 – conditionally healthy tissue. In the blood of patients with precancerous changes in the larynx and cancer patients, the main part of neutrophils was represented by cells with a 4-segment nucleus, and the number of hypersegmented forms (5 or more segments) was higher than in the blood of healthy volunteers ($p < 0,002$). The same type of changes in smear prints of biopsies from different areas of the pathological focus in patients with precancerous and malignant neoplasms were revealed: as they approached the pathological focus, an increase the cells which 4-5 or more segments was observed. The content of hypersegmented forms was maximum in the pathological focus. Only in patients with a widespread tumor process, neutrophils with a 4-segment nucleus dominated the immediate environment of the tumor. As the tumor spreads and metastases form, the proportion of hypersegmented cells increases in the population of intra-tumor neutrophils. It is very likely that the morphological features of tissue neutrophils in different zones of the pathological focus reflect their functional heterogeneity, and hypersegmentation of nuclei can be considered as a potential predictor of the development and progression of the tumor process.

Keywords: blood neutrophils, tissue neutrophils, hypersegmentation of nuclei, precancerous diseases of the larynx, localized laryngeal cancer, advanced laryngeal cancer.

1 **1 Введение**

2 Развитие и течение опухолевых процессов обычно сопровождается
3 привлечением иммунных клеток. При различных типах раков многие авторы
4 отмечают увеличение численности циркулирующих в крови нейтрофилов [9].
5 Нейтрофильные гранулоциты (НГ) в большом количестве присутствуют и в
6 очаге развития злокачественных новообразований. Показано, что миграция
7 нейтрофилов в опухоль не всегда связана с воспалительной реакцией. В
8 настоящее время считают, что в ткани опухоли нейтрофилы могут выполнять
9 разные функции, осуществляя при этом про- либо противоопухолевое
10 действие [4, 15]. В настоящее время получены многочисленные свидетельства,
11 подтверждающие участие НГ на всех стадиях развития злокачественных
12 новообразований, от инициации опухолевой трансформации до их
13 инвазивного роста и метастазирования.

14 Известно, что присутствие нейтрофилов в опухоли часто коррелирует с
15 неблагоприятным прогнозом, однако до сих пор нет однозначного ответа о
16 роли опухоли-ассоциированных нейтрофилов (TAN - tumor-associated
17 neutrophils) и о связи их морфофункциональных особенностей с прогнозом
18 течения заболевания. TAN представлены гетерогенной популяцией, в которой
19 в настоящее время выделяют две разных по функциональным свойствам
20 субпопуляции: N1 и N2 с противоопухолевыми и проопухолевыми
21 свойствами, соответственно [3]. Результаты клинических и
22 экспериментальных исследований демонстрируют возможность нейтрофилов
23 к функциональной и морфологической трансформации под влиянием
24 факторов опухолевого микроокружения [6].

25 Хотя пластичность нейтрофилов изначально рассматривалась применительно
26 к опухолевым процессам, в настоящее время ее значимость распространяется
27 на различные клинические ситуации, включая хроническое воспаление и
28 инфекционные заболевания.

29 Цель исследования - оценить структурные особенности ядер тканевых
30 нейтрофилов в зоне патологического процесса у больных с предопухолевыми
31 изменениями и злокачественными новообразованиями в области гортани и
32 гортаноглотки.

33 **2 Материалы и методы**

34 Обследованы 8 человек с предопухолевыми изменениями в области гортани и
35 гортаноглотки (5 - с хроническим гиперпластическим ларингитом, 3 - с
36 дисплазией эпителия гортани), а также 32 пациента с впервые выявленным
37 раком гортани и гортаноглотки, медианные значения возраста которых
38 составили 57,6 (39;69) лет. Взятие материала у пациентов осуществлялось в
39 эндоскопическом отделении НИИ онкологии ФГБНУ «Томский
40 национальный исследовательский медицинский центр Российской академии
41 наук», г. Томск (заведующий отделением – д.м.н. Черемисина О.В.). Группа

42 условно здоровых доноров (21 человек сопоставимого возраста)
43 сформирована во время профилактического осмотра. Все лица, биологический
44 материал которых был использован в данной работе, проходили процедуру
45 подписи информированного согласия на участие в научно-практическом
46 исследовании.

47 В соответствии с классификацией TNM все пациенты с раком гортани и
48 гортаноглотки были разделены на 2 группы: первую группу составили 18
49 пациентов с II и III стадиями опухолевого процесса и отсутствием метастазов
50 ($T_{2-3}N_0M_0$), вторая группа состояла из 12 пациентов с III стадией опухолевых
51 заболеваний, у которых были выявлены регионарные метастазы ($T_3N_{1-2}M_0$).

52 Материалом исследования стали мазки из гепаринизированной венозной
53 крови и мазки-отпечатки, приготовленные из тканевых биоптатов пациентов
54 НИИ онкологии, полученных из трех локализаций: 1 - зоны патологического
55 очага; 2 - границы между патологическим очагом и неизменной (условно
56 здоровой) тканью; 3 – условно здоровой ткани. Мазки фиксировались в
57 этиловом спирте в течение 10 мин и окрашивались в течение 30 мин по методу
58 Романовского-Гимза.

59 Основное внимание при анализе морфологических особенностей нейтрофилов
60 уделяли структурным особенностям их ядер. Подсчет степени
61 сегментированности ядер нейтрофилов в мазках крови и биоптатах был
62 проведен с помощью микроскопа Zeiss Primo Star (Carl Zeiss MicroImaging
63 GmbH, Германия) в стандартном режиме. Оценка степени
64 сегментированности была проведена в 100 нейтрофильных гранулоцитах. В
65 каждой клетке оценивалось количество сегментов в ядре с последующим
66 выделением трех групп:

- 67 1) нейтрофилы, ядра которых содержат 2-3 сегмента;
- 68 2) нейтрофилы, ядра которых содержат 4 сегмента;
- 69 3) нейтрофилы, ядра которых содержат 5 и более сегментов.

70 Для анализа структурных особенностей был введен средний коэффициент
71 сегментированности (СКС), который отражает распределение нейтрофильных
72 гранулоцитов с ядрами различной степени сегментированности [2].

73 Статистическую обработку данных проводили с помощью программного
74 обеспечения STATISTICA 10.0 (StatSoft, США). Для оценки характера
75 распределения данных использовали критерий Шапиро-Уилка. Результаты
76 представляли в виде медианы и межквартильного интервала (Me (Q1; Q3)).
77 Для исследования значимости различий применяли U-критерий Манна-Уитни

78 3 Результаты исследований и обсуждение результатов

79 Оценка степени сегментированности ядер нейтрофилов показала, что в крови
80 условно здоровых добровольцев преобладали клетки с умеренно
81 сегментированными ядрами (2-3 сегмента), и их количество было значимо
82 выше (75 (69;80))%, чем в крови больных с предопухолевыми изменениями
83 гортани (39 (35;48))%, $p < 0,001$) и больных раком гортани соответственно (51
84 (41;61))%, $p < 0,001$). В крови больных с предопухолевыми изменениями
85 гортани и онкобольных основная часть нейтрофилов была представлена
86 клетками с 4-х сегментным ядром, а число гиперсегментированных форм (5 и
87 более сегментов) было выше (9,5 (6;13))%; 10 (7;16))%; соответственно), чем в
88 крови условно здоровых добровольцев (1;2))%; $p < 0,002$. В сравнении с
89 пациентами, у которых диагностировали предопухолевые заболевания, у
90 онкобольных отмечалось более высокое содержание умеренно
91 сегментированных форм нейтрофилов (51 (41;61))%; 39 (35;48))%; $p = 0,05$) и
92 меньшее число 4-х сегментных нейтрофилов (38 (31;75))%; 50 (47;50))%;
93 $p = 0,07$).

94 Изучение характера сегментированности тканевых нейтрофилов в разных
95 локализациях патологического процесса показало, что у больных с
96 предопухолевыми изменениями гортани и онкобольных выявляются во
97 многом схожие характеристики популяционного состава (табл.1).

98 Было выявлено, что при предопухолевых заболеваниях тканевые нейтрофилы
99 с умеренной сегментированностью ядер (2-3 сегмента) преимущественно
100 локализуются в здоровой ткани, а на границе со здоровой тканью и в зоне
101 патологического очага их количество прогрессивно снижается. В то же время
102 число 4-х сегментных и гиперсегментированных форм нейтрофильных
103 гранулоцитов возрастало по мере приближения к зоне патологического очага
104 (табл.1).

105 Важно, что при анализе степени сегментированности нейтрофилов в мазках
106 биоптатов из разных зон патологического очага у больных раком гортани и
107 гортаноглотки мы выявили аналогичные изменения: по мере приближения к
108 опухоли наблюдалось увеличение содержания клеток, ядра которых имеют 4
109 сегмента, 5 и более сегментов, а содержание менее сегментированных форм
110 было максимальным в здоровой ткани (табл.2). Это отразилось на значениях
111 показателя СКС (введенного нами интегрального показателя, отражающего
112 степень сегментированности ядер нейтрофилов в общем пуле клеток),
113 максимальные значения которого отмечались в опухолевой ткани.

114 Примечательно, что числовые значения СКС у пациентов с опухолями и
115 предопухолевыми процессами статистически значимо не различались. Чтобы
116 оценить связь распространенности опухолевого процесса с особенностями
117 структурной организации тканевых нейтрофилов, был проведен
118 сравнительный анализ сегментированности НГ в разных зонах
119 патологического процесса у пациентов двух подгрупп: «локализованный рак»
120 - больные без регионарных и отдаленных метастазов со II-ой и III-ей стадией
121 опухолевого процесса ($T_{2-3}N_0M_0$); «распространенный рак» - с III-ей стадией
122 опухолевого процесса и регионарными метастазами ($T_3N_{1-2}M_0$).

123 В ходе проведения анализа внутри каждой подгруппы были выявлены
124 однотипные статистически значимые различия, аналогичные изменениям в
125 общей группе онкобольных: увеличение числа 4-х сегментных и
126 гиперсегментированных нейтрофилов по мере приближения к зоне роста
127 опухоли и снижение численности менее сегментированных (2-3 сегмента)
128 форм (табл. 3). Средний коэффициент сегментированности имел
129 максимальные значения в зоне роста опухоли, а наименьшие – в биоптатах
130 здоровой ткани.

131 При межгрупповом сравнении показателей у больных с локализованным и
132 распространенным раком мы не выявили каких-либо статистически значимых
133 различий. Однако можно отметить, что только у пациентов с
134 распространенным опухолевым процессом нейтрофилы с 4х-сегментным
135 ядром доминируют в ближайшем окружении опухоли (табл.3). Обращает на
136 себя внимание тенденция к изменению содержания слабо сегментированных
137 нейтрофилов в здоровой ткани и окружении опухоли, проявившаяся при
138 распространенном раке в большем их числе в неизменной ткани и
139 сниженном – в опухолевом окружении (табл.3).

140 В настоящее время общепринятым является представление о существовании
141 двух основных фенотипов НГ при развитии онкологических заболеваний: N1
142 – противоопухолевый и N2 – проопухолевый. НГ с гиперсегментированными
143 ядрами многие авторы рассматривают, как N1-нейтрофилы, обладающие
144 повышенным цитотоксическим потенциалом и способностью к продукции
145 провоспалительных медиаторов [3, 10]. В то же время, на модели острого
146 воспаления и у пациентов с тяжелыми травмами другие авторы показали, что
147 гиперсегментированные НГ клетки обладают иммуносупрессивным, т.е.
148 потенциально проопухолевым эффектом [13].

149 В проведенных нами ранее исследованиях было выявлено, что в системной
150 циркуляции у здоровых добровольцев доминируют НГ с умеренной степенью
151 сегментированности (2-3 сегмента) и практически не встречаются
152 гиперсегментированные формы, тогда как в крови онкобольных их
153 содержание существенно повышено и возрастает по мере распространения
154 опухолевого процесса [2]. Настоящее исследование продемонстрировало, что
155 повышенное содержание в крови гиперсегментированных НГ характерно и
156 для пациентов с предопухолевыми процессами. Известно, что к
157 предопухолевым процессам относят усиленную пролиферацию и
158 гиперплазию, а также нарушения дифференцировки в виде метаплазии и
159 дисплазии. Возникновение таких нарушений предполагает не только наличие
160 клеток с измененным функциональным статусом, но и способность таких
161 клеток трансформировать и подчинять себе окружающее пространство.
162 Формирование «опухолевой ниши» является важнейшим условием
163 малигнизации и дальнейшего развития опухоли. В состав клеточного пула
164 «опухолевой ниши», несомненно, входят и нейтрофилы, гиперсегментация
165 ядер которых является, по-видимому, адаптационной структурной

166 трансформацией, необходимой для реализации функций в сформированном
167 патологическом очаге.

168 Хорошо известно, что НГ инфильтрируют многие органы и ткани даже в
169 условиях здоровья, что свидетельствует об их гистофизиологическом
170 потенциале [1]. Причем, гомеостатическая роль нейтрофилов может быть
171 реализована как с помощью потенциально деструктивных факторов, так и
172 посредством влияния на экспрессию генов, контролирующих
173 пролиферативные процессы и ангиогенез в ходе репаративных процессов [1].

174 Предопухолевые процессы, как и злокачественные новообразования,
175 характеризуются усиленной пролиферацией и гиперплазией. У
176 обследованных нами пациентов с предопухолевыми изменениями гортани
177 содержание 4-х сегментных и гиперсегментированных нейтрофилов было
178 достоверно повышено в «пограничной» зоне и непосредственно в очаге
179 патологического процесса. Т.е. уже на стадии предопухолевых заболеваний,
180 вероятно, в связи с длительным хроническим воспалением, в тканевом пуле
181 клеток происходит накопление гиперсегментированных гранулоцитов.
182 Подобная закономерность отмечена и при анализе мазков биоптатов,
183 полученных от пациентов с раком гортани и гортаноглотки, причем, значения
184 средних коэффициентов сегментации из разных зон патологического очага
185 практически совпадали с аналогичными показателями пациентов с
186 предраками. Известно, что микроокружение опухоли характеризуется
187 стойким воспалением, при этом обсуждается как негативная, так и позитивная
188 роль тканевых нейтрофилов [13]. В частности, способность нейтрофилов
189 рекрутироваться и впоследствии контролировать воспаление может являться
190 решающим звеном в формировании опухоли и дальнейшей её прогрессии.

191 Сравнительный анализ степени сегментированности ядер нейтрофилов на
192 примере опухолевого процесса у больных с локализованным и
193 распространенным раком гортани и гортаноглотки показал, что в обеих
194 подгруппах наблюдалась тенденция к увеличению содержания 4-х сегментных
195 и гиперсегментированных нейтрофилов и снижению менее сегментированных
196 форм по мере приближения к зоне опухолевого очага. Средний коэффициент
197 сегментированности также увеличивался и в зоне роста опухоли достигал
198 максимальных значений. При этом в группе онкобольных без регионарных
199 метастазов ($T_{2-3}N_0M_0$) не наблюдалось достоверных различий по содержанию
200 нейтрофилов разной степени сегментированности в здоровой ткани и
201 ближайшем опухолевом окружении. В то же время у пациентов с
202 распространенным раком ($T_3N_{1-2}M_0$) в ближайшем окружении опухоли было
203 существенно снижено число слабосегментированных гранулоцитов и
204 повышено содержание нейтрофилов с 4-мя сегментами. Вероятно, увеличение
205 сегментированности ядер опухоль-инфильтрирующих нейтрофилов может
206 свидетельствовать об увеличении риска метастазирования опухоли.
207 Подтверждением этому могут служить результаты экспериментальных

208 исследований о способности нейтрофилов влиять на миграцию опухолевых
209 клеток, а значит, и стимулировать метастазирование [8].

210 До настоящего времени остаются неразрешенными многие важные вопросы,
211 касающиеся клеточного происхождения и разнообразия ассоциированных с
212 опухолью нейтрофилов, в частности, закономерности их инфильтрации в
213 опухолевую ткань, а также фенотипические изменения, которым они
214 подвергаются в «опухолевой нише», включая происхождение N₂-
215 нейтрофилов [5]. Предположительно, нейтрофилы с проканцерогенным
216 фенотипом (N₂) могут образовываться в костном мозге под влиянием
217 стимулов, исходящих от опухолевых клеток. Второй механизм образования
218 нейтрофилов популяции N₂ может быть связан с трансформацией
219 нейтрофилов N₁ непосредственно в опухоли под влиянием продуцируемых ею
220 факторов [12]. В недавно проведенном экспериментальном исследовании
221 убедительно показано, что опухолевую ткань инфильтрируют как зрелые, так
222 и незрелые нейтрофилы костномозгового происхождения [11]. При попадании
223 в опухоль эти субпопуляции реализуют различные эпигенетические и
224 транскрипционные программы, обозначенные авторами как T₁ и T₂
225 (аналогичные N₁ и N₂). Более того, было отмечено дальнейшее
226 перепрограммирование НГ внутри опухоли, приводящее к конвергенции T₁ и
227 T₂ в новую, окончательно дифференцированную популяцию TAN,
228 обозначенную как T₃, при этом устранение факторов, способствующих
229 дифференцировке T₁/T₂ в T₃, не изменяло фенотип клеток на
230 противоположный. По мнению Fridlender Z.G. и соавт., детально
231 проанализировавших это исследование, процессы перепрограммирования НГ
232 под влиянием локальных стимулов могут происходить и при многих
233 хронических воспалительных заболеваниях [5].

234 Состав и плотность клеточного инфильтрата опухолевого микроокружения
235 определяется как локальными хемокиновыми сигналами, так и миграционной
236 способностью клеток. Высокая мобильность зрелых нейтрофилов связана, в
237 том числе, с наличием уникальной многолопастной формы ядра,
238 обеспечивающей быстрое проникновение в ткани через тесные межклеточные
239 контакты [7, 14]. В таком случае гиперсегментация ядер может максимально
240 ускорять миграционные процессы, опосредованно способствуя приобретению
241 проопухолевого фенотипа.

242 Таким образом, на этапе предопухолевых изменений и на ранних стадиях
243 развития опухоли (T₂₋₃N₀M₀) состав тканевых пулов нейтрофилов на границе
244 патологического очага и в неизменной ткани совпадает по своим
245 морфологическим характеристикам, но по мере распространения опухолевого
246 процесса (T₃N₁₋₂M₀) в популяции тканевых гранулоцитов, так же, как и в
247 системном кровотоке [2], увеличивается доля гиперсегментированных клеток.
248 Весьма вероятно, что отмеченные нами морфологические особенности
249 тканевых НГ в разных зонах патологического очага отражают их

250 функциональную гетерогенность, поэтому могут рассматриваться в качестве
251 потенциальных предикторов развития и прогрессирования онкологических
252 заболеваний. Совершенствование наших знаний о молекулярных механизмах,
253 лежащих в основе гиперсегментации ядер НГ, может способствовать выбору
254 новых терапевтических мишеней для лечения острых и хронических
255 воспалительных процессов, а также для контроля функционального статуса
256 нейтрофилов в очаге опухолевого роста.

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Сегментированность ядер нейтрофильных гранулоцитов в мазках биоптатов у больных с предопухолевыми изменениями гортани, % (Me (Q₂₅:Q₇₅)).

Table 1. Segmentation of neutrophil granulocyte nuclei in biopsy smears in patients with precancerous laryngeal changes, % (Me (Q₂₅:Q₇₅)).

Число сегментов в ядрах The number of segments	Исследуемые зоны Study areas			p
	1 Здоровая ткань Healthy tissue	2 Граница патологического очага и здоровой ткани The border of the pathological focus and healthy tissue	3 Патологический очаг Pathological focus	
2-3 сегмента 2-3 segments	64 (62;66)	41 (24;57)	20 (16;25)	p₁₋₂=0,04 p₁₋₃<0,001 p₂₋₃=0,05
4 сегмента 4 segments	30 (27;33)	41 (38;45)	47 (43;53)	p₁₋₂=0,05 p₁₋₃=0,03 p ₂₋₃ =0,33
5 и более сегментов 5 or more segments	6 (1;8)	11 (6;24)	27 (21;34)	p₁₋₂=0,04 p₁₋₃<0,001 p ₂₋₃ =0,06
СКС ASC	1,43 (1,35;1,46)	1,50 (1,46;1,92)	2,00 (1,85;2,11)	p ₁₋₂ =0,35 p₁₋₃<0,001 p₂₋₃=0,003

--	--	--	--	--

Примечание: СКС – средний коэффициент сегментированности; p – уровень значимости различий.

Note: ASC - average segmentation coefficient; p - the level of significance of differences.

Таблица 2. Сегментированность ядер нейтрофильных гранулоцитов в мазках биоптатов у больных раком гортани и гортаноглотки, % (Me (Q₂₅:Q₇₅)).

Table 2. Segmentation of neutrophil granulocyte nuclei in biopsy smears in patients with laryngeal and laryngopharyngeal cancer, % (Me (Q₂₅:Q₇₅)).

Число сегментов в ядрах The number of segments	Исследуемые зоны Study areas			p
	1 Здоровая ткань Healthy tissue	2 Ближайшее окружение опухоли The immediate environment of the tumor	3 Опухоль Tumor	
2-3 сегмента 2-3 segments	62 (47;76)	50 (40;54)	23 (15;32)	p₁₋₂=0,007 p₁₋₃<0,001 p₂₋₃<0,001
4 сегмента 4 segments	27 (22;38)	42 (38;50)	50 (44;54)	p₁₋₂=0,006 p₁₋₃<0,001 p₂₋₃=0,048
5 и более сегментов 5 or more segments	6 (2;9)	9 (4;15)	24,5 (14;32)	p₁₋₂=0,2 p₁₋₃<0,001 p₂₋₃<0,001
СКС ASC	1,42 (1,26;1,63)	1,6 (1,5;1,73)	2,07 (1,82;2,19)	p₁₋₂=0,2 p₁₋₃<0,001 p₂₋₃<0,001

Примечание: СКС – средний коэффициент сегментированности; p – уровень значимости различий.

Note: ASC - average segmentation coefficient; p - the level of significance of differences.

Таблица 3. Сегментированность нейтрофильных гранулоцитов в мазках биопатов из разных зон патологического очага у больных локализованным (T₂₋₃N₀M₀) и распространенным (T₃N₁₋₂M₀) раком гортани и гортаноглотки, % (Me; Q₂₅:Q₇₅).

Table 3. Segmentation of neutrophil granulocytes in biopsy smears from different areas of the pathological focus in patients with localized (T₂₋₃N₀M₀) and widespread (T₃N₁₋₂M₀) cancer of the larynx and larynx, % (Iu; Q₂₅:Q₇₅).

Число сегментов в ядрах The number of segments	Исследуемые зоны Study areas			p
	1 Здоровая ткань Healthy tissue	2 Ближайшее окружение опухоли The immediate environment of the tumor	3 Опухоль Tumor	
Больные с локализованным раком (T ₂₋₃ N ₀ M ₀), n=18 Patients with localized cancer (T ₂₋₃ N ₀ M ₀), n=18				
2-3 сегмента 2-3 segments	50(33;57)	50(46;54)	26(22;31)	p ₁₋₂ =1,00 p ₁₋₃ = 0,02 p ₂₋₃ = 0,01
4 сегмента 4 segments	38(36;53)	40(36;52)	51(49;54)	p ₁₋₂ =1,00 p ₁₋₃ =0,10 p ₂₋₃ =0,10
5 и более сегментов 5 or more segments	8(6;13)	10(3;14)	20(15;27)	p ₁₋₂ =1,00 p ₁₋₃ = 0,005 p ₂₋₃ = 0,04

СКС ASC	1,66 (1,50;1,80)	1,60 (1,55;1,62)	1,96 (1,84;2,10)	p ₁₋₂ =0,84 p ₁₋₃ =0,008 p ₂₋₃ =0,01
Больные с распространенным раком (T ₃ N ₁₋₂ M ₀), n=12 Patients with advanced cancer (T ₃ N ₁₋₂ M ₀), n=12				
2-3 сегмента 2-3 segments	64(49;69)	38(33;52)	24(18;36)	p ₁₋₂ =0,16 p ₁₋₃ =0,01 p ₂₋₃ =0,03
4 сегмента 4 segments	33(26;37)	48(40;55)	46(43;59)	p ₁₋₂ =0,05 p ₁₋₃ =0,03 p ₂₋₃ =0,6
5 и более сегментов 5 or more segments	6(4;13)	9(5;13)	22(17;26)	p ₁₋₂ =0,75 p ₁₋₃ =0,03 p ₂₋₃ =0,03
СКС ASC	1,39(1,37;1,66)	1,73(1,53;1,83)	1,93(1,83;2,08)	p ₁₋₂ =0,3 p ₁₋₃ =0,01 p ₂₋₃ =0,02

Примечание: СКС – средний коэффициент сегментированности; p – уровень значимости различий; n – число обследованных пациентов в каждой группе.

Note: ASC - average segmentation coefficient; p - the level of significance of differences; n is the number of examined patients in each group.

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Кологринова Елена Николаевна – доктор мед. наук, профессор, профессор кафедры иммунологии и аллергологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации'

адрес: 634050, Томская область, г.Томск, Московский тракт, 2;
телефон: 8(913)876-80-69;

ORCID: 0000-0003-1639-4676;

e-mail: enkologrivova@mail.ru

Elena N. Kologrivova – Ph.D., Dr. Sci. (Med.), Prof., Prof. of the Department of Immunology and Allergology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation;

address: 2 Moskovsky trakt, 643050;

telephone: 8(913)876-80-69;

ORCID: 0000-0003-1639-4676;

e-mail: enkologrivova@mail.ru

Блок 2. Информация об авторах

Плешко Раиса Ивановна – доктор мед. наук, профессор, профессор кафедры морфологии и общей патологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

ORCID: 0000-0001-8845-2086

Raisa I. Pleshko – M.D., Ph.D., Dr. Sci. (Med.), Prof., Prof. of the Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation;

ORCID: 0000-0001-8845-2086

Черемисина Ольга Владимировна – доктор мед. наук, заведующая эндоскопическим отделением, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия);

ORCID: 0000-0001-7234-4708

Olga V. Cheremisina – M.D., Ph.D., Dr. Sci. (Med.), Head of Endoscopy Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia);

ORCID: 0000-0001-7234-4708

Болдышевская Маргарита Андреевна – врач клинической лабораторной диагностики патолого-анатомического отделения, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск);

ORCID: 0000-0002-2399-4170

Margarita A. Boldyshevskaya – Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics of the Pathological and Anatomical Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia);

ORCID: 0000-0002-2399-4170

Геренг Елена Андреевна – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры морфологии и общей патологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

ORCID: 0000-0001-7226-0328

Gereng A. Elena – M.D., Ph.D., Dr. Sci. (Med.), Prof. of the Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation;

ORCID: 0000-0001-7226-0328

Насибов Темур Фируддин оглы – студент 5 курса Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

ORCID: 0000-0002-8056-3967

Nasibov Timur Firuddin oglu – fifth-year student, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation;

ORCID: 0000-0002-8056-3967

Блок 3. Метаданные статьи

ТКАНЕВЫЙ ПУЛ ГИПЕРСЕГМЕНТИРОВАННЫХ НЕЙТРОФИЛОВ У ПАЦИЕНТОВ С ПРЕДОПУХОЛЕВЫМИ И ОПУХОЛЕВЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ГОРТАНИ И ГОРТАНОГЛОТКИ

TISSUE POOL OF HYPERSEGMENTED NEUTROPHILS IN PATIENTS WITH PRECANCEROUS AND TUMOR DISEASES OF THE LARYNX AND LARYNGOPHARYNX

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

ТКАНЕВЫЙ ПУЛ НЕЙТРОФИЛОВ
TISSUE POOL OF NEUTROPHILS

Ключевые слова: нейтрофилы крови, тканевые нейтрофилы, гиперсегментация ядер, предопухолевые заболевания гортани, локализованный рак гортани, распространенный рак гортани.

Keywords: blood neutrophils, tissue neutrophils, hypersegmentation of nuclei, precancerous diseases of the larynx, localized laryngeal cancer, advanced laryngeal cancer.

Объединенный иммунологический форум 2024.

Количество страниц текста – 7,

Количество таблиц – 3,

Количество рисунков – 0.

22.03.2024

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1.	Долгушин И.И., Мезенцева Е.А. Нейтрофильные гранулоциты: участие в гомеостатических и репаративных процессах. Часть II // Инфекция и иммунитет.- 2021. -Т. 11, № 1.- С. 25–41.	Dolgushin I.I., Mezentseva E.A. Neutrophil granulocytes: participation in homeostatic and reparative processes. Part II // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, Vol. 11, no. 1, pp. 25–41.	https://iimmun.ru/iimm/article/view/1258 [doi: 10.15789/2220-7619-NGP-1258]
2.	Кологривова Е.Н., Плешко Р.И., Черемисина О.В., Болдышевская М.А. «Гиперсегментация ядер нейтрофилов крови у больных с локализованным распространенным раком гортани и гортаноглотки»// Медицинская	Kologrivova E.N. Pleshko R.I., Cheremisina O.V., Boldyshevskaya M.A. “Hypersegmentation of neutrophil nuclei in peripheral blood of patients with localized and	https://www.mimmun.ru/mimmun/article/view/2715/1769 [doi: 10.15789/1563-0625-HON-2715]

	ИММУНОЛОГИЯ. - 2023.- Т. 25, № 5. -С. 1111-1116.	advanced cancer of the larynx and laryngopharynx”, Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2023, Vol. 25, no. 5, pp. 1111-1116.	
3.	Fridlender Z.G., Sun J., Kim S., Kapoor V., Cheng G., Ling L., Worthen G.S., Albelda S.M. Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF-beta: "N1" versus "N2" TAN. Cancer Cell, 2009, Sep 8, Vol.16, no.3, pp.183-94.	-	https://www.cell.com/cancer-cell/fulltext/S1535-6108(09)00215-3 [doi: 10.1016/j.ccr.2009.06.017. PMID: 19732719; PMCID: PMC2754404]
4.	Fridlender Z.G., Albelda S.M. Tumor-associated neutrophils: friend or foe? Carcinogenesis, 2012, Vol. 33, no.5, pp.949-55.	-	https://academic.oup.com/carcin/article/33/5/949/2463833?login=false [doi: 10.1093/carcin/bgs123. Epub 2012 Mar 16. PMID: 22425643]
5.	Fridlender Z.G., Granot Z. Neutrophils in the tumor microenvironment - when a company becomes a crowd. Cell Mol Immunol, 2024, Mar 8.	-	https://www.nature.com/articles/s41423-024-01147-9 [doi: 10.1038/s41423-024-01147-9. Epub ahead of print. PMID: 38459242]

6.	Jaillon S., Ponzetta A., Di Mitri D., Santoni A., Bonecchi R., Mantovani A. Neutrophil diversity and plasticity in tumour progression and therapy. <i>Nat Rev Cancer</i> , 2020, Vol.20, no.9, pp.485-503.	-	https://www.nature.com/articles/s41568-020-0281-y [doi: 10.1038/s41568-020-0281-y. Epub 2020 Jul 21. PMID: 32694624]
7.	Manley H.R., Keightley M.C., Lieschke G.J. The neutrophil nucleus: an important influence on neutrophil migration and function. <i>Front. Immunol.</i> , 2018, Vol.9, 2867.	-	https://www.frontiersin.org/journal/immunology/articles/10.3389/fimmu.2018.02867/full [doi: 10.3389/fimmu.2018.02867]
8.	Masucci M.T., Minopoli M., Carriero M.V. Tumor associated neutrophils. Their role in tumorigenesis, metastasis, prognosis and therapy. <i>Front. Oncol.</i> , 2019, Vol.9, 1146.	-	https://www.frontiersin.org/journal/oncology/articles/10.3389/fonc.2019.01146/full [doi: 10.3389/fonc.2019.01146]
9.	Mishalian I, Granot Z, Fridlender ZG. The diversity of circulating neutrophils in cancer. <i>Immunobiology</i> . 2017, Vol.222, no.1, pp.82-88.	-	https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0171298516300171?via%3Dihub [doi: 10.1016/j.imbio.2016.02.001. Epub 2016 Feb 3. PMID: 26874580]

10.	Murdoch C., Muthana M., Coffelt S.B., Lewis C.E. The role of myeloid cells in the promotion of tumour angiogenesis. <i>Nat Rev Cancer</i> , 2008, Vol. 8, no.8, pp.618-631.	-	https://www.nature.com/articles/nrc2444 [doi: 10.1038/nrc2444. Epub 2008 Jul 17. PMID: 18633355]
11.	Ng M.S.F., Kwok I., Tan L., Shi C., Cerezo-Wallis D., Tan Y., et al. Deterministic reprogramming of neutrophils within tumors. <i>Science</i> , 2024, Vol.12, no.383, 6679.	-	https://www.science.org/doi/10.1126/science.adf6493?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed [doi: 10.1126/science.adf6493. Epub 2024 Jan 12. PMID: 38207030]
12.	Ohms M., Moller S., Laskay T. An attempt to polarize human neutrophils toward N1 and N2 phenotypes in vitro. <i>Front. Immunol.</i> , 2020, Vol. 11, 532.	-	https://www.frontiersin.org/journal/immunology/articles/10.3389/fimmu.2020.00532/full [doi: 10.3389/fimmu.2020.00532]
13.	Powell D.R., Huttenlocher A. Neutrophils in the Tumor Microenvironment. <i>Trends Immunol.</i> , 2016, Vol.37, no.1, pp.41-52.	-	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4707100/ [doi: 10.1016/j.it.2015.11.008. Epub 2015 Dec 14. PMID: 26700397; PMCID: PMC4707100]

14.	Salvermoser M., Begandt D., Alon Rand Walzog B. Nuclear Deformation During Neutrophil Migration at Sites of Inflammation. <i>Front. Immunol.</i> , 2018, Vol.9, 2680.	-	https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2018.02680/full [doi: 10.3389/fimmu.2018.02680]
15.	Uribe-Querol E., Rosales C. Neutrophils in Cancer: Two Sides of the Same Coin. <i>J Immunol Res.</i> , 2015, Vol. 2015, 983698.	-	https://www.hindawi.com/journals/jir/2015/983698/ [doi: 10.1155/2015/983698. Epub 2015 Dec 24. PMID: 26819959; PMCID: PMC4706937]