

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 ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,
г. Томск, Россия

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

Резюме. Присутствие нейтрофилов в опухоли часто коррелирует с неблагоприятным прогнозом, однако до сих пор нет однозначного ответа о роли опухоли-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 4-сегментным ядром доминировали в ближайшем окружении опухоли, и отмечалась тенденция к снижению содержания слабо сегмен-

Адрес для переписки:

Кологривова Елена Николаевна
ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения РФ
634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, 2.
Тел.: 8 (913) 876-80-69.
E-mail: enkologrivova@mail.ru

Address for correspondence:

Elena N. Kologrivova
Siberian State Medical University
2 Moskovsky Trakt
Tomsk
643050 Russian Federation
Phone: +7 (913) 876-80-69.
E-mail: enkologrivova@mail.ru

Образец цитирования:

Е.Н. Кологривова, Р.И. Плешко, О.В. Черемисина,
М.А. Болдышевская, Е.А. Геренг, Т.Ф. Насибов
«Тканевый пул гиперсегментированных нейтрофилов
у пациентов с предопухолевыми и опухолевыми
заболеваниями гортани и гортаноглотки»
// Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27,
№ 4. С. 929-938.
doi: 10.46235/1028-7221-16626-TPO

© Кологривова Е.Н. и соавт., 2024

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

E.N. Kologrivova, R.I. Pleshko, O.V. Cheremisina,
M.A. Boldyshevskaya, E.A. Gereng, T.F. Nasibov “Tissue pool
of hypersegmented neutrophils in patients with precancerous
and tumor diseases of the larynx and laryngopharynx”,
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 929-938.
doi: 10.46235/1028-7221-16626-TPO

© Kologrivova E.N. et al., 2024

The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16626-TPO

тированных 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

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, Tomsk, Russian Federation

^b Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation

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. Eight 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; and 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 with 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

Введение

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

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

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

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

Материалы и методы

Обследованы 8 человек с предопухолевыми изменениями в области гортани и гортаноглотки (5 – с хроническим гиперпластическим ларингитом, 3 – с дисплазией эпителия гортани), а также 32 пациента с впервые выявленным ра-

ком гортани и гортаноглотки, медианные значения возраста которых составили 57,6 (39–69) лет. Взятие материала у пациентов осуществлялось в эндоскопическом отделении НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск (заведующий отделением – д.м.н. Черемисина О.В.). Группа условно здоровых доноров (21 человек сопоставимого возраста) сформирована во время профилактического осмотра. Все лица, биологический материал которых был использован в данной работе, проходили процедуру подписи информированного согласия на участие в научно-практическом исследовании.

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

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

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

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

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

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного обеспечения STATISTICA 10.0 (StatSoft, США). Для оценки характера распределения данных использовали критерий Шапиро–Уилка. Результаты представляли в виде медианы и межквартильного интервала – Ме ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$). Для исследования значимости различий применяли U-критерий Манна–Уитни

Результаты и обсуждение

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

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

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

Важно, что при анализе степени сегментированности нейтрофилов в мазках биоптатов из разных зон патологического очага у больных раком гортани и гортаноглотки мы выявили аналогичные изменения: по мере приближения к опухоли наблюдалось увеличение содержания клеток, ядра которых имеют 4 сегмента, 5 и более

сегментов, а содержание менее сегментированных форм было максимальным в здоровой ткани (табл. 2). Это отразилось на значениях показателя СКС (введенного нами интегрального показателя, отражающего степень сегментированности ядер нейтрофилов в общем пуле клеток), максимальные значения которого отмечались в опухолевой ткани.

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

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

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

В настоящее время общепринятым является представление о существовании двух основных фенотипов НГ при развитии онкологических заболеваний: N1 – противоопухолевый и N2 – проопухолевый. НГ с гиперсегментированными ядрами многие авторы рассматривают, как N1-нейтрофилы, обладающие повышенным цитотоксическим потенциалом и способностью к продукции провоспалительных медиаторов [3, 10]. В то же время на модели острого воспаления

ТАБЛИЦА 1. СЕГМЕНТИРОВАННОСТЬ ЯДЕР НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ В МАЗКАХ БИОПТАТОВ У БОЛЬНЫХ С ПРЕДОПУХОЛЕВЫМИ ИЗМЕНЕНИЯМИ ГОРТАНИ, % (Me (Q_{0,25}-Q_{0,75}))

TABLE 1. SEGMENTATION OF NEUTROPHIL GRANULOCYTE NUCLEI IN BIOPSY SMEARS IN PATIENTS WITH PRECANCEROUS LARYNGEAL CHANGES, % (Me (Q_{0,25}-Q_{0,75}))

Число сегментов в ядрах Number of segments	Исследуемые зоны Study areas			p
	Здоровая ткань Healthy tissue	Граница патологического очага и здоровой ткани Border of the pathological focus and healthy tissue	Патологический очаг Pathological focus	
2-3 сегмента 2-3 segments	64 (62-66)	41 (24-57)	20 (16-25)	p ₁₋₂ = 0,04 p ₁₋₃ < 0,001 p ₂₋₃ = 0,05
4 сегмента 4 segments	30 (27-33)	41 (38-45)	47 (43-53)	p ₁₋₂ = 0,05 p ₁₋₃ = 0,03 p ₂₋₃ = 0,33
5 и более сегментов 5 or more segments	6 (1-8)	11 (6-24)	27 (21-34)	p ₁₋₂ = 0,04 p ₁₋₃ < 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 p ₁₋₃ < 0,001 p ₂₋₃ = 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 (Q_{0,25}-Q_{0,75}))

TABLE 2. SEGMENTATION OF NEUTROPHIL GRANULOCYTE NUCLEI IN BIOPSY SMEARS IN PATIENTS WITH LARYNGEAL AND LARYNGOPHARYNGEAL CANCER, % (Me (Q_{0,25}-Q_{0,75}))

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

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

ТАБЛИЦА 3. СЕГМЕНТИРОВАННОСТЬ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ В МАЗКАХ БИОПАТОВ ИЗ РАЗНЫХ ЗОН ПАТОЛОГИЧЕСКОГО ОЧАГА У БОЛЬНЫХ ЛОКАЛИЗОВАННЫМ ($T_{2-3}N_0M_0$) И РАСПРОСТРАНЕННЫМ ($T_3N_{1-2}M_0$) РАКОМ ГОРТАНИ И ГОРТАНОГЛОТКИ, % (Me ($Q_{0,25}-Q_{0,75}$)))

TABLE 3. SEGMENTATION OF NEUTROPHIL GRANULOCYTES IN BIOPSY SMEARS FROM DIFFERENT AREAS OF THE PATHOLOGICAL FOCUS IN PATIENTS WITH LOCALIZED ($T_{2-3}N_0M_0$) AND WIDESPREAD ($T_3N_{1-2}M_0$) CANCER OF THE LARYNX AND LARYNX, % (Me ($Q_{0,25}-Q_{0,75}$)))

Число сегментов в ядрах Number of segments	Исследуемые зоны Study areas			p
	Здоровая ткань Healthy tissue	Ближайшее окружение опухоли Immediate environment of the tumor	Опухоль Tumor	
Больные с локализованным раком ($T_{2-3}N_0M_0$), n = 18 Patients with localized cancer ($T_{2-3}N_0M_0$), 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 ($T_3N_{1-2}M_0$), n = 12 Patients with advanced cancer ($T_3N_{1-2}M_0$), 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.

и у пациентов с тяжелыми травмами другие авторы показали, что гиперсегментированные НГ клетки обладают иммуносупрессивным, т.е. потенциально проопухолевым эффектом [13].

В проведенных нами ранее исследованиях было выявлено, что в системной циркуляции у здоровых добровольцев доминируют НГ с умеренной степенью сегментированности (2-3 сегмента) и практически не встречаются гипер-

сегментированные формы, тогда как в крови онкобольных их содержание существенно повышено и возрастает по мере распространения опухолевого процесса [2]. Настоящее исследование продемонстрировало, что повышенное содержание в крови гиперсегментированных НГ характерно и для пациентов с предопухолевыми процессами. Известно, что к предопухолевым процессам относят усиленную пролиферацию и

гиперплазию, а также нарушения дифференцировки в виде метаплазии и дисплазии. Возникновение таких нарушений предполагает не только наличие клеток с измененным функциональным статусом, но и способность таких клеток трансформировать и подчинять себе окружающее пространство. Формирование «опухолевой ниши» является важнейшим условием малигнизации и дальнейшего развития опухоли. В состав клеточного пула «опухолевой ниши», несомненно, входят и нейтрофилы, гиперсегментация ядер которых является, по-видимому, адаптационной структурной трансформацией, необходимой для реализации функций в сформированном патологическом очаге.

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

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

Сравнительный анализ степени сегментированности ядер нейтрофилов на примере опухолевого процесса у больных с локализованным и распространенным раком гортани и гортаноглотки показал, что в обеих подгруппах наблюдалась тенденция к увеличению содержания

4-сегментных и гиперсегментированных нейтрофилов и снижению менее сегментированных форм по мере приближения к зоне опухолевого очага. Средний коэффициент сегментированности также увеличивался и в зоне роста опухоли достигал максимальных значений. При этом в группе онкобольных без регионарных метастазов ($T_{2-3}N_0M_0$) не наблюдалось достоверных различий по содержанию нейтрофилов разной степени сегментированности в здоровой ткани и ближайшем опухолевом окружении. В то же время у пациентов с распространенным раком ($T_3N_{1-2}M_0$) в ближайшем окружении опухоли было существенно снижено число слабосегментированных гранулоцитов и повышено содержание нейтрофилов с 4-мя сегментами. Вероятно, увеличение сегментированности ядер опухоль-инфильтрирующих нейтрофилов может свидетельствовать об увеличении риска метастазирования опухоли. Подтверждением этому могут служить результаты экспериментальных исследований о способности нейтрофилов влиять на миграцию опухолевых клеток, а значит, и стимулировать метастазирование [8].

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

граммирования НГ под влиянием локальных стимулов могут происходить и при многих хронических воспалительных заболеваниях [5].

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

Заключение

Таким образом, на этапе предопухолевых изменений и на ранних стадиях развития опухоли ($T_{2-3}N_0M_0$) состав тканевых пулов нейтрофилов

на границе патологического очага и в неизменной ткани совпадает по своим морфологическим характеристикам, но по мере распространения опухолевого процесса ($T_3N_{1-2}M_0$) в популяции тканевых гранулоцитов, так же, как и в системном кровотоке [2], увеличивается доля гиперсегментированных клеток. Весьма вероятно, что отмеченные нами морфологические особенности тканевых НГ в разных зонах патологического очага отражают их функциональную гетерогенность, поэтому могут рассматриваться в качестве потенциальных предикторов развития и прогрессирования онкологических заболеваний. Совершенствование наших знаний о молекулярных механизмах, лежащих в основе гиперсегментации ядер НГ, может способствовать выбору новых терапевтических мишеней для лечения острых и хронических воспалительных процессов, а также для контроля функционального статуса нейтрофилов в очаге опухолевого роста.

Список литературы / References

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. *Infektsiya i иммунитет = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2021, Vol. 11, no. 1, pp. 25-41. (In Russ.)] 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 иммунология, 2023. Т. 25, № 5. С. 1111-1116. [Kologrivova E.N. Pleshko R.I., Cheremisina O.V., Boldyshevskaya M.A. Hypersegmentation of neutrophil nuclei in peripheral blood of patients with localized and advanced cancer of the larynx and laryngopharynx. *Meditinskaya Immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2023, Vol. 25, no. 5, pp. 1111-1116. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-HON-2715.
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, Vol. 16, no. 3, pp. 183-194.
4. Fridlender Z.G., Albelda S.M. Tumor-associated neutrophils: friend or foe? *Carcinogenesis*, 2012, Vol. 33, no. 5, pp. 949-955.
5. Fridlender Z.G., Granot Z. Neutrophils in the tumor microenvironment – when a company becomes a crowd. *Cell. Mol. Immunol.*, 2024. doi: 10.1038/s41423-024-01147-9.
6. Jaillon S., Ponzetta A., Di Mitri D., Santoni A., Bonocchi R., Mantovani A. Neutrophil diversity and plasticity in tumour progression and therapy. *Nat. Rev. Cancer*, 2020, Vol. 20, no. 9, pp. 485-503.
7. Manley H.R., Keightley M.C., Lieschke G.J. The neutrophil nucleus: an important influence on neutrophil migration and function. *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 9, 2867. 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. *Front. Oncol.*, 2019, Vol. 9, 1146. doi: 10.3389/fonc.2019.01146.
9. Mishalian I., Granot Z., Fridlender Z.G. The diversity of circulating neutrophils in cancer. *Immunobiology*, 2017, Vol. 222, no. 1, pp. 82-88.
10. Murdoch C., Muthana M., Coffelt S.B., Lewis C.E. The role of myeloid cells in the promotion of tumour angiogenesis. *Nat. Rev. Cancer*, 2008, Vol. 8, no. 8, pp. 618-631.
11. Ng M.S.F., Kwok I., Tan L., Shi C., Cerezo-Wallis D., Tan Y., Leong K., Calvo G.F., Yang K., Zhang Y., Jin J., Liong K.H., Wu D., He R., Liu D., Teh Y.C., Bleriot C., Caronni N., Liu Z., Duan K., Narang V., Ballesteros I., Moalli F., Li M., Chen J., Liu Y., Liu L., Qi J., Liu Y., Jiang L., Shen B., Cheng H., Cheng T., Angeli V., Sharma A., Loh Y.H.,

Tey H.L., Chong S.Z., Iannacone M., Ostuni R., Hidalgo A., Ginhoux F., Ng L.G. Deterministic reprogramming of neutrophils within tumors. *Science*, 2024, Vol. 12, no. 383, 6679. doi: 10.1126/science.adf6493.

12. Ohms M., Moller S., Laskay T. An attempt to polarize human neutrophils toward N1 and N2 phenotypes *in vitro*. *Front. Immunol.*, 2020, Vol. 11, 532. doi: 10.3389/fimmu.2020.00532.

13. Powell D.R., Huttenlocher A. Neutrophils in the Tumor Microenvironment. *Trends Immunol.*, 2016, Vol. 37, no. 1, pp. 41-52.

14. Salvermoser M., Begandt D., Alon Rand Walzog B. Nuclear Deformation During Neutrophil Migration at Sites of Inflammation. *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 9, 2680. doi: 10.3389/fimmu.2018.02680.

15. Uribe-Querol E., Rosales C. Neutrophils in Cancer: Two Sides of the Same Coin. *J. Immunol. Res.*, 2015, Vol. 2015, 983698. doi: 10.1155/2015/983698.

Авторы:

Кологривова Е.Н. — д.м.н., профессор, профессор кафедры иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

Плешко Р.И. — д.м.н., профессор, профессор кафедры морфологии и общей патологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

Черемисина О.В. — д.м.н., заведующая эндоскопическим отделением, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Authors:

Kologrivova E.N., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Immunology and Allergology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Pleshko R.I., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Cheremisina O.V., PhD, MD (Medicine), Head, Endoscopy Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation

Болдышевская М.А. — врач клинической лабораторной диагностики патолого-анатомического отделения, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Геренг Е.А. — д.м.н., доцент, профессор кафедры морфологии и общей патологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

Насибов Т.Ф. — студент 5 курса ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

Boldyshevskaya M.A., Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, Pathological and Anatomical Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation

Gereng E.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Nasibov T.F., 5th year Student, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Поступила 22.03.2024
Принята к печати 30.03.2024

Received 22.03.2024
Accepted 30.03.2024