

Н.И. Лисяный
И.А. Гнедкова
Л.Н. Бельская
А.А. Шмелева
А.Н. Лисяный
В.В. Васлович
М.А. Гнедкова

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ОПУХОЛЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА

ДУ «Институт нейрохирургии
им. акад. А.П. Ромоданова
НАМН Украины», Киев,
Украина

Ключевые слова: глиомы,
стволовые клетки, CD133,
лимфоциты, нейтрофилы,
тромбоциты.

Цель: проанализировать зависимость от уровня экспрессии антигенов CD133 в опухолях головного мозга гистоструктуры и степени злокачественности последних, а также соотношений содержания в периферической крови (ПК) клеток различных ростков гемопоэза (гранулоцитов, лимфоцитов — Лф, тромбоцитов — Тр). **Объект и методы:** изучены показатели ПК 46 больных с глиальными опухолями. Экспрессию CD133 на опухолевых клетках определяли в исходной суспензии операционного материала с помощью MkАт к CD133 (Millipore) методом проточной цитометрии. Определение показателей ПК проводили в дооперационный период, используя автоматический гематологический анализатор MINDRAY BC 3000 plus. Определяли абсолютные количества Тр, нейтрофилов (Нф) и Лф, а также соотношение абсолютных показателей Тр/Лф и Тр/Нф и относительного содержания Нф/Лф. **Результаты:** установлено, что в глиобластомах (IV степени анаплазии) уровень экспрессии CD133 в 2–3 раза выше, чем при глиомах I–III степени анаплазии. В группе больных с высокой экспрессией CD133 отмечено достоверное снижение относительного содержания Лф в ПК по сравнению с группой больных с низким уровнем CD133⁺ клеток. Между количеством CD133⁺ клеток в опухоли и относительным содержанием Лф в ПК установлена отрицательная корреляция ($r = -0,40$), относительным содержанием Нф — положительная корреляция ($r = 0,45$). Соотношение Нф/Лф было достоверно больше при высоком содержании CD133⁺ клеток по сравнению с низкими значениями CD133⁺ ($4,4 \pm 0,9$ и $2,4 \pm 0,7$ соответственно). **Выводы:** содержание стволовых клеток CD133⁺ в глиомах головного мозга увеличивается с повышением степени анаплазии. Количество CD133⁺ клеток в опухолевой ткани коррелирует с относительным содержанием Лф (отрицательная корреляция) и Нф (положительная корреляция) в ПК больных с опухолями головного мозга.

Активно изучается роль экспрессии молекул CD133 на опухолевых клетках (ОК) в патогенезе и клиническом течении глиом головного мозга [1]. Показано, что экспрессия CD133 (PROM-1) ассоциирована со стволовыми клетками (СК) и выявляется в опухолях пациентов с коротким периодом ремиссии. Отмечена достоверная отрицательная корреляция между продолжительностью жизни больных и содержанием в опухоли CD133⁺ клеток [2]. Показано также, что количество CD133⁺ клеток увеличивалось в зависимости от степени анаплазии глиомы. Наибольшее содержание CD133⁺ ОК отмечалось в пронейрональной и мезенхимальной группах глиобластом [1, 2].

Изучена связь между клинической ремиссией и продолжительностью жизни больных с глиомами и экспрессией в опухоли не только CD133, но и ряда других молекулярных маркеров: ABCG2, CD44, CD95, ELF, Nestin, GFAP и SPARs [5]. В частности, показано, что в зависимости от степени анаплазии глиом повышается содержание белка Nestin. Экспрес-

сия двух маркеров (CD133 и Nestin) коррелировала с прогнозом, длительностью периода ремиссии и выживаемостью больных с глиомами. Достоверно меньшая продолжительность жизни отмечена у пациентов с высокой экспрессией CD133 (258 против 502 дней при низком уровне этого антигена) [1, 5]. Инвазивные свойства глиомы регулируются CD44 (рецептор гиалуроновой кислоты). Этот антиген экспрессирован на 100% клеток линий глиобластом [5]. Высокий уровень экспрессии транскрипционного фактора Nanog, который играет важную роль в поддержании плюрипотентности и способности к самообновлению СК, ассоциирован с тенденцией к более низкой выживаемости больных с глиомами (354 дня по сравнению с 435 днями при низком содержании Nanog) [5].

Установлена коэкспрессия CD133, Nestin, CD44 с Notch1 — трансмембранным белком, входящим в эволюционно консервативный сигнальный путь, который регулирует межклеточные взаимодействия, в том числе в глиобластомах. Установлено, что Notch1 и NFκβ-p65 значительно экспресси-

рованы в классическом и пронеурональном типе глиом [7]. У пациентов с высоким уровнем Notch1 наблюдали меньшую продолжительность жизни. Клетки, экспрессирующие Notch1, обладают способностью инициировать опухоль [8].

СК глиом (GSCs) содержат рецептор LGR5 (leucine rich repeat containing G protein-coupled receptor-5), который принимает участие в инициации опухоли, пролиферации и инвазии. Глиомы, экспрессирующие LGR5^{high}, имеют плохой клинический прогноз [6].

В клетках глиом с низким содержанием CD133 отмечено наличие фермента изоцитратдегидрогеназы (IDH) [3], что особенно характерно для глиобластом мезенхимального типа. С высоким уровнем IDH ассоциирована экспрессия PTPN2 (protein tyrosin phosphatase nonreceptor type 2). Отмечена высокая корреляция PTPN2 с иммунным ответом и воспалительной активностью глиом. Потенциальной мишенью при дерегуляции IDH является и рецептор тромбоцитарного фактора роста (PDGFRA). Экспрессия этого рецептора повышена в клетках глиом с высоким содержанием CD133 (PROM-1^{high}) и сочетается с плохой выживаемостью больных [4]. Такие глиомы демонстрируют пронеурональную транскрипционную программу, характерную для PDGFRA амплифицированных опухолей [9].

Изложенное обосновывает цель работы: проанализировать зависимость от уровня экспрессии CD133 в опухолях головного мозга гистоструктуры и степени злокачественности последних, а также соотношений содержания в периферической крови (ПК) клеток различных ростков гемопоэза (гранулоцитов, лимфоцитов, тромбоцитов), косвенно отражающих развитие воспалительного и иммунного процессов.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучен полученный во время оперативного вмешательства материал опухолей головного мозга и показатели ПК 46 больных (19 — с глиобластомами, 9 — с анапластическими астроцитомами, 12 — с астроцитомами фибриллярно-протоплазматическими, 6 — с олигодендроглиомами), находившихся на лечении в ДУ «Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова НАМН Украины». В группу сравнения (контроль) были включены показатели ПК 30 больных с неонкологическими хроническими заболеваниями. Все пациенты подписали стандартное информированное согласие на проведение диагностических исследований и использование их биологического материала в научных целях.

Операционный материал (кусочки опухолевой ткани) дезинтегрировали с помощью шприца с толстой иглой в стерильной среде Игла. Полученную клеточную суспензию фильтровали через нейлоновый фильтр и дважды центрифугировали (5 мин при 1500 об./мин). Затем клетки разводили в полной среде RPMI для получения нужной концентра-

ции. Фенотип ОК определяли методом проточной цитометрии с помощью МкАТ к CD133 (Millipore): в разведении МкАТ 1:100, соотношении с 50 мкл суспензии ОК 1:1, 30 мин инкубации при 4 °С. После однократной отмывки охлажденной средой Игла (1500,0 об./мин, 5 мин) инкубировали клетки со вторичными, мечеными флюоресцеинизотиоцианатом антимишными, антиглобулиновыми антителами (ООО «Сорбент», Россия) в течение 30 мин согласно рекомендациям производителя [10]. Иммунофлуоресцентный анализ проводили на проточном цитофлуориметре (Beckman Coulter, USA) по соответствующему протоколу.

Определение показателей ПК выполняли в дооперационный период на автоматическом гематологическом анализаторе MINDRAY BC 3000 plus (Китай, метрологическая проверка в 2017 г.). Определяли абсолютное содержание в ПК тромбоцитов (Тр), нейтрофилов (Нф) и лимфоцитов (Лф); а также рассчитывали соотношения абсолютных количеств Тр к Лф (Тр/Лф), Тр к Нф (Тр/Нф) и процентного содержания Нф к Лф (Нф/Лф).

Длительность клинической ремиссии оценивали при повторном поступлении больных в клинику на основании клинической симптоматики и по данным компьютерной и магнитно-резонансной томографии.

Математическую обработку полученных результатов проводили на персональном компьютере с использованием пакета программ «Statistica 6,0». Достоверность отличий оценивали на основании критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При сопоставлении содержания клеток CD133⁺ в зависимости от гистоструктуры опухоли мозга и длительности клинической ремиссии была отмечена тенденция к увеличению содержания СК с повышением степени злокачественности опухоли мозга. Отмечена также тенденция к сокращению длительности послеоперационной ремиссии при более высоком содержании СК.

Наименьший период ремиссии отмечался у больных с глиобластомами при наибольшем содержании СК (табл. 1). Наличие в опухоли СК часто было связано с повышением степени анаплазии глиомы, например у больных с олигодендроглиомами (см. табл. 1).

Таблица 1

Сопоставление длительности ремиссии больных с содержанием СК в опухолях мозга различной гистоструктуры

| Гистологический тип опухоли | Количество СК (CD133 ⁺) | Длительность ремиссии, мес |
|--|-------------------------------------|----------------------------|
| Глиобластомы (n = 19) | 9,4 ± 1,3** | 16,7 ± 5,2* |
| Анапластические астроцитомы (n = 9) | 3,1 ± 0,8** | 33,8 ± 18,4 |
| Астроцитомы фибриллярно-протоплазматические (n = 12) | 3,8 ± 0,9** | 34,1 ± 7,7* |
| Олигодендроглиомы (n = 6) | 9,0 ± 2,9 | 22,0 ± 4,3 |

*Достоверность различий в длительности ремиссии в зависимости от гистоструктуры глиом — $p < 0,05$.

**Достоверность различий в содержании CD133⁺ клеток в глиомах различной степени анаплазии — $p < 0,05$.

Полученные результаты согласуются с данными [2] об отрицательной корреляции между продолжительностью жизни больных и содержанием в опухоли CD133⁺ клеток.

Ранее было показано, что при глиобластомах достоверно повышаются показатели соотношений Тр/Лф и Нф/Лф по сравнению с доброкачественными опухолями; в ПК больных с глиомами отмечено увеличение абсолютного и относительного содержания Нф, повышение соотношения Тр/Лф и Нф/Лф, снижение соотношения Тр/Нф [11]. В настоящем исследовании проанализированы перечисленные выше параметры в зависимости от содержания CD133⁺ клеток в опухолях 26 больных, которых разделили на 2 группы — с относительно высоким и относительно низким уровнем экспрессии CD133 (соответственно $11,1 \pm 0,6$ и $3,6 \pm 0,4\%$, $p < 0,01$) (табл. 2 и 3).

Установлено, что абсолютное количество Тр в ПК практически не зависело от содержания в опухолях CD133⁺ клеток и не превышало значения соответствующих показателей в группе сравнения (см. табл. 2). Общее количество лейкоцитов (Лц) было несколько больше в группе с высоким содержанием CD133⁺ клеток по сравнению со значениями соответствующего показателя в группе с низкими значениями CD133⁺ клеток и достоверно больше, чем в группе сравнения, за счет достоверного увеличения абсолютного содержания Нф. Абсолютное количество Лф в ПК больных с опухолями не отличалось достоверно в зависимости от содержания CD133⁺ клеток и демонстрировало тенденцию к повышению при сравнении с показателями контрольной группы (см. табл. 2).

Как видно из табл. 3, в группе больных с высоким содержанием CD133⁺ клеток отмечено достоверное снижение относительного содержания Лф в ПК по сравнению с группой больных с низким содержанием CD133⁺ клеток и группой сравнения. Не выявлено достоверной разницы между группами по показателю относительного содержания Нф. Установлены отрицательная корреляция между содержанием CD133⁺ клеток в опухоли и относительным содержанием Лф в ПК ($r = -0,40$) и положительная кор-

реляция между содержанием СК CD133⁺ и относительным содержанием Нф ($r = 0,45$). Соотношение Нф/Лф было достоверно выше в группе больных с высоким уровнем CD133⁺ клеток ($4,4 \pm 0,9$ против $2,4 \pm 0,7$ в группе с низкой экспрессией CD133 и $2,2 \pm 0,2$ в группе сравнения). Соотношение Тр/Лф было несколько ниже в группе больных с низкими значениями CD133 в опухоли против группы сравнения и больных с высоким содержанием этого антигена. Подобная особенность ПК была отмечена нами ранее у больных с доброкачественными глиомами [11]. Показатель Тр/Нф был достоверно ниже в группе больных с высокими значениями CD133⁺ при сопоставлении с соответствующими значениями в группе сравнения за счет достоверного увеличения абсолютного содержания Нф (см. табл. 3). Полученные данные предполагают определенную роль воспалительных реакций в активации СК в опухоли.

Клетки с маркерами СК выявляются в глиомах при снижении относительного и абсолютного количества Лф в ПК [12]. Вероятно, в такой ситуации развивается общая и системная иммунодепрессия, которая изменяет микроокружение опухоли и биохимические процессы в опухолевом очаге (делая последние подобными таким на ранних стадиях онтогенеза), что может приводить к активации клона СК.

На эмбриональных СК (ESCs) экспрессированы стадия-зависимые эмбриональные антигены SSEA3, SSEA4, TRA-60, TRA-81. Из 40 поверхностных маркеров опухолевых СК (CSCs) 35 (88%) экспрессированы и на эмбриональных СК, и на СК взрослого организма; на эмбриональных СК экспрессирован 21 маркер (53%) [13].

CD133 в опухолевых СК активирует Wnt/ β -катенин сигнальный путь, подавляет поглощение трансферрина. CD133 гемопоэтических СК (HSCs) регулирует ранний гемопоэз и раннюю миелоэритроцитарную функцию во время стрессорного гемопоэза. CD133⁺ — критический регулятор HSCs человека, их дифференцировки и функции [14]. Вероятно, гликопротеин CD133 (экспрессируемый на гемопоэтических, опухолевых и нейрональных СК) так же, как и антиген SSEA1 (CD15; экспрессируемый на ранних стадиях эмбриогенеза, на про-

Таблица 2

Абсолютное количество ($\cdot 10^9$ /л) Тр и клеток ПК больных в зависимости от содержания CD133⁺ клеток в опухоли

| Содержание CD133 ⁺ клеток в опухолях, % | Тр | Лц | Лф | Нф |
|--|------------------|-----------------|---------------|-----------------|
| $11,1 \pm 0,6^*$ (n = 14) | $226,1 \pm 11,6$ | $9,6 \pm 1,4^*$ | $2,0 \pm 0,2$ | $6,9 \pm 0,8^*$ |
| $3,6 \pm 0,4$ (n = 12) | $239,8 \pm 20,9$ | $7,5 \pm 1,3$ | $2,2 \pm 0,2$ | $4,9 \pm 1,2$ |
| Не определяли, группа сравнения (n = 30) | $213,9 \pm 8,3$ | $5,6 \pm 0,3$ | $1,7 \pm 0,1$ | $4,0 \pm 0,5$ |

* $p < 0,05$ — достоверность различий между группой больных и группой сравнения.

Таблица 3

Соотношение клеток и форменных элементов ПК больных в зависимости от содержания CD133⁺ клеток в опухоли

| Содержание CD133 ⁺ клеток в опухолях, % | Относительное количество в ПК, % | | Соотношение | | |
|--|----------------------------------|----------------|--------------------|------------------|---------------------|
| | Лф | Нф | Нф/Лф | Тр/Лф | Тр/Нф |
| $11,1 \pm 0,6^*$ (n=14) | $19,5 \pm 3,1^{**}$ | $67,5 \pm 4,2$ | $4,4 \pm 0,9^{**}$ | $138,5 \pm 19,0$ | $37,8 \pm 4,5^{**}$ |
| $3,6 \pm 0,4$ (n=12) | $33,1 \pm 3,4$ | $58,4 \pm 3,4$ | $2,4 \pm 0,7$ | $108,8 \pm 11,6$ | $59,8 \pm 8,5$ |
| Не определяли, группа сравнения (n = 30) | $31,7 \pm 1,5$ | $62,1 \pm 1,7$ | $2,2 \pm 0,2$ | $131,2 \pm 5,9$ | $65,9 \pm 5,1$ |

* $p < 0,05$ — достоверность различий между группами больных с высоким и низким содержанием клеток CD133⁺ в опухоли.

** $p < 0,05$ — достоверность различий между группой больных и группой сравнения.

гениторных и эмбриональных клетках при развитии нервной системы, на нейронах взрослого мозга, а также на Нф и моноцитах), является патогенетическим звеном изменений в ПК, наблюдаемых при глиомах головного мозга [11, 12, 15, 16].

Полученные факты наводят на мысль, что угнетение лимфоцитарного ростка гемопоэза, снижение эффекторных функций Лф могут сопровождаться активацией клоногенных свойств СК опухолей мозга. Хотя возможен и обратный механизм — активация и увеличение экспрессии CD133 в опухоли активирует гранулоцитопоз и формирование миелосупрессорных клеток нейтрофильного ряда (PMN-MDSCs), сопровождающееся увеличением в крови белка S100 A8/9 и аргиназы, что определяет иммуносупрессивную функцию этих клеток и вызывает лимфопению [17–19]. Результаты исследований в определенной степени могут подтверждать мнение о существовании иммунологического контроля над ростом глиомы. Если при содержании Лф в ПК > 30% можно предполагать наличие такого контроля, то при снижении абсолютного и относительного содержания Лф (< 10%), вероятно, происходят глубокие нарушения в иммунологической регуляции пролиферации ОК, что приводит к накоплению СК в опухоли [12, 18, 19].

В связи с этим актуальным является дальнейшее изучение природы СК опухоли и экспрессии различных рецепторов и маркеров на них. Изучение связи иммунного статуса с содержанием СК в глиомах будет способствовать выработке критериев степени злокачественности последних и особенностей их взаимоотношения с иммунной системой конкретного больного, выявлению мишеней для дальнейшей индивидуализации методов иммунотерапии.

Таким образом, полученные результаты и данные литературы показывают, что при глиомах головного мозга, особенно при наиболее злокачественных глиобластомах, активируется гранулоцитарный росток кроветворения и подавляется лимфоцитарный. В опухоли и ПК увеличивается содержание миелоцитарных клеток, повышающих злокачественность глиомы [16–19]. Увеличение содержания СК CD133⁺ в глиомах сопровождается повышением степени анаплазии опухоли и сокращением длительности периода клинической ремиссии.

ВЫВОДЫ

1. Содержание СК CD133⁺ в глиомах головного мозга возрастает с повышением степени анаплазии опухолей, при глиобластомах (IV степень анаплазии) экспрессия этого антигена в 2–3 раза выше, чем при глиомах I–III степени анаплазии.

2. Установлены положительная корреляция содержания СК CD133⁺ в паренхиме глиальных опухолей с уровнем Нф в ПК и отрицательная корреляция с содержанием Лф в ПК больных с опухолями головного мозга.

3. Выявлено разнонаправленное влияние глиальных опухолей с высоким содержанием СК CD133⁺ на гемопоэз и систему врожденного и приобретенного иммунитета, а именно стимуляция гранулоцитопоза и подавление лимфоцитопоза.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- Dahlrot RH, Hansen S, Jensen SS, *et al.* Clinical value of 133 and nestin in patients with glioma: a population based study. *J Clin Exp Pathol* 2014; **7** (7): 3739–51.
- Dey M, Ulasov IV, Tyler MA, *et al.* Cancer stem cells: The final frontier for glioma virotherapy. *Stem Cell Rev* 2011; **7** (1): 119–29.
- Ahmed SI, Javed G, Laghari AA, *et al.* CD133 expression in glioblastoma multiforme: a literature review. *Cureus* 2018; **10** (10): e3439.
- Flavahan WA, Drier Y, Liao BB, *et al.* Insulator dysfunction and oncogene activation in IDH mutant gliomas. *Nature* 2016; **529** (758u): 110–4.
- Bien-Moller S, Balz E, Herzog S, *et al.* Association of glioblastoma multiforme stem cell characteristics differentiation and microglia markers genes with patient survival. *Stem Cells Int* 2018; **96**: 28289.
- Zhang J, Cai H, Sun L, *et al.* LGR5, a novel functional glioma stem cell marker, promotes EMT by activating the Wnt/ β -catenin pathway and predicts poor survival of glioma patients. *J Exp Clin Cancer Res* 2018; **37** (1): 225.
- Hai L, Zhang Ch, Li T, *et al.* Notch is a prognostic factor that is distinctly activated in the classical and proneural subtype of glioblastoma and that promotes glioma cell survival via the NF κ B-p65 pathway. *Cell Death Dis* 2018; **9** (2): 158.
- Verhaak RGW, Hoadley CA, Purdom E, *et al.* An integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in PDGFRA, IDH1, RGFR and NF1. *Cancer Cell* 2010; **17** (1): 98–110.
- Wang R, Cas H, Zhang Ch, *et al.* Molecular and clinical characterization of PTPN2 expression from RNA seq data of 996 brain gliomas. *J Neuroinflammation* 2018; **15**: 145.
- Pinegin BV, Yrilin AA, Semenova AV, *et al.* Primenie protochnoy cytometrii dly ochenki funkcionalnoy aktivnosti immynn systemy cheloveka/ Posobie dly vrachey/ M. 2001. 58. (in Russian).
- Gnedkova IA, Lisyaniy NI, Shmeleva AA, *et al.* Ration of innate and adaptive immunity cells in peripheral blood depending on histogenesis and degree of anaplasia of brain tumors. *Onkology* 2018; **20** (1): 28–33 (in Russian).
- Lisyaniy NI, Gnedkova I.A, Belskay LN, *et al.* Content of stem tumor CD133⁺ and CD15⁺ cells in gliomas and lymphocytes in peripheral blood of patients with gliomas of different level anaplasia. *Onkology* 2016; **18** (1): 44–7 (in Russian).
- Kim WT, Ryu CJ. Cancer stem cell surface markers on normal stem cells. *BMB Rep* 2017; **50** (6): 285–98.
- Glumac PM, LeBeau AM. The role of CD133 in cancer: a concise review. *Clin Transl Med* 2018; **7**: 18.
- Gieden PR, Schulte BM, Kers-Rebel ED, *et al.* Elevated levels of polymorphonuclear myeloid-derived suppressor cells in patients with glioblastoma highly express S100 A8/9 and arginase a suppress T cell function. *Neuro Oncol* 2016; **18** (9): 1253–64.
- Mostofa AGM, Pungamuru SR, Madolla HR. The process and regulatory components of inflammation in brain ocogenesis. *Biomolecules* 2017; **7** (2): 34.
- Giering A, Kaminska B. Myeloid-derived suppressor cells in gliomas. *Contemp Oncol (Pozn)* 2016; **20** (5): 345–51.
- Hung Y, Rajappa P, Hu W, *et al.* A proangiogenic signaling axis in myeloid cells promotes malignant progression of glioma. *J Clin Invest* 2017; **127** (15): 1826–38.

19. **Otvos B, Silver DJ, Mulkems-Habert EE, et al.** Cancer stem cells-secreted macrophages migration inhibitory factor stimulates myeloid derived suppressor cell function and facilitates glioblastoma immune evasion. *Stem Cells* 2016; **34** (8): 2026–39.

КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН В ПУХЛИНАХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

**М.І. Лісяний, І.О. Гнедкова, Л.М. Бельська,
А.А. Шмельова, О.М. Лісяний, В.В. Васлович,
М.О. Гнедкова**

ДУ «Інститут нейрохірургії
ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України»,
Київ, Україна

Резюме. *Ціль:* проаналізувати залежність від рівня експресії антигену CD133 у пухлинах головного мозку гістоструктури і ступеня злоякісності останніх, а також співвідношень вмісту в периферичній крові (ПК) клітин різних паростків гемопоезу (гранулоцитів, лімфоцитів — Лф, тромбоцитів — Тр). *Об'єкт і методи:* вивчено показники ПК 46 пацієнтів з гліальними пухлинами. Експресію CD133 на пухлинних клітинах визначали у вихідній суспензії операційного матеріалу за допомогою McAb до CD133 (Millipore) методом проточної цитометрії. Визначення показників ПК проводили в доопераційний період, використовуючи автоматичний гематологічний аналізатор MINDRAY BC 3000 plus. Досліджували абсолютну кількість Тр, нейтрофілів (Нф) і Лф, а також співвідношення абсолютних показників Тр/Лф і Тр/Нф та відносного вмісту Нф/Лф. **Результати:** встановлено, що в гліобlastомах (IV ступеня анаплазії) рівень експресії CD133 був у 2–3 рази вищим, ніж в гліомах I–III ступеня анаплазії. У групі хворих з високою експресією CD133 відмічали достовірно зниження відносного вмісту Лф в ПК порівняно з групою хворих з низьким рівнем CD133⁺ клітин. Між кількістю CD133⁺ клітин в пухлині і відносним вмістом Лф у ПК встановлено негативну кореляцію ($r = -0,40$), відносним вмістом Нф — позитивну ($r = 0,45$). Співвідношення Нф/Лф було достовірно більшим за високого рівня CD133⁺ клітин порівняно з низькими значеннями CD133⁺ ($4,4 \pm 0,9$ і $2,4 \pm 0,7$ відповідно). **Висновки:** експресія CD133 в гліомах головного мозку зростає з підвищенням ступеня анаплазії. Кількість CD133⁺ клітин у пухлинній тканині корелює з відносним вмістом Лф (негативний зв'язок) і Нф (позитивний зв'язок) в ПК пацієнтів з пухлинами головного мозку.

Ключові слова: гліоми, стовбурові клітини, CD133, лімфоцити, нейтрофіли, тромбоцити.

CLINICAL SIGNIFICATION OF THE CONTENT OF STEM CELLS IN BRAIN TUMORS

**N.I. Lisyanyi, I.A. Gnedkova, L.N. Belskay,
A.A. Shmeleva, A.N. Lisyanyi, V.V. Vaslovich,
M.A. Gnedkova**

SI «Romodanov Neurosurgery Institute,
NAMS of Ukraine», Kyiv, Ukraine

Summary. Objective: to analyze the dependence of histostructure and the degree of malignancy of brain tumors on the expression level of CD133 antigens in brain tumors, as well as the ratios of different hematopoietic germ cells (granulocytes, lymphocytes — Lph, platelets — Plt) in peripheral blood (PB). **Object and methods:** the parameters of PB of 46 patients with glial tumors were studied. The expression of CD133 on tumor cells was determined in the initial suspension of the operative material using McAb to CD133 (Millipore) using flow cytometry. The determination of PB indices was carried out in the preoperative period using the automatic hematology analyzer MINDRAY BC 3000 plus. Absolute amounts of Plt, neutrophils (Nph) and Lph, as well as the ratio of absolute amounts of Plt/Lph and Plt/Nph and relative content of Nph/Lph were determined. **Results:** it was established that in glioblastomas (degree IV of anaplasia) the expression level of CD133 is 2–3 times higher than with gliomas degree I–III of anaplasia. In the group of patients with high CD133 expression, there was a significant decrease in the relative content of Lph in PB compared with the group of patients with low CD133⁺ cells. A negative correlation ($r = -0.40$) was established between the number of CD133⁺ cells in the tumor and the relative content of Lph in the PB; the positive correlation ($r = 0.45$) was established by the relative content of Nph. The ratio Nph/Lph was significantly higher with a high content of CD133⁺ cells compared to low values of CD133⁺ (4.4 ± 0.9 and 2.4 ± 0.7 , respectively). **Conclusions:** the content of CD133⁺ stem cells in brain gliomas increases with increasing degree of anaplasia. The number of CD133⁺ cells in the tumor tissue correlates with the relative content of Lph (negative correlation) and Nph (positive correlation) in the PB of patients with brain tumors.

Key Words: gliomas, stem cells, CD133, lymphocytes, neutrophils, platelets.

Адрес для переписки:

Лісяний Н.І.
04050, Київ, ул. Майбороды, 32
ДУ «Інститут нейрохірургії
ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України»
E-mail: nimm.neuro@gmail.com

Получено: 25.02.2019