

СРАВНИТЕЛЬНОЕ КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ГЛИОМАХ В АССОЦИИ С ЭПИЛЕПСИЕЙ И ВОСПАЛЕНИЕМ

Митрофанова Л.Б., Соколов И.А., Воробьева О.М., Стерхова К.А., Улитин А.Ю.

ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова», Санкт-Петербург

Эпилепсия (Э) - одно из самых распространенных неврологических заболеваний. Одним из факторов ее развития рассматривается воспаление, ассоциированное также и с глиальными опухолями, клетки которых способны синтезировать ряд веществ, модулирующих активность воспалительной реакции [Galvão RP, Zong H., 2013].

Цель исследования: оценить вклад воспаления в развитие церебральных глиом и эпилепсии

Материалы и методы: был исследован операционный материал 13 олигодендроглиом (ОДГ) (из них все с Э), 16 астроцитом (А) Grade 2-4 (из них 12 с Э и 4 без), 8 глиобластом (ГЛБ; из них 3 с Э и 5 без) и участки вещества височной доли 3 пациентов с фокальной кортикальной дисплазией IIb. Выполнялось гистологическое, иммуногистохимическое исследование с антителами к IDH1(R132H), Ki-67, p53, CXCR4, MHC1, CD3, CD16, CD68, CD117 и FISH с целью поиска 1p19q-коделеции. Исследовалась ткань опухоли и ее перифокальная зона (зона эпилептической активности, определяемая при помощи электрокортикографии). Определялось среднее соотношение количества клеток (в %) с экспрессией CD3, CD16, CD68, CD117 к общему количеству клеток в поле зрения при x200 в 10 п/зрения в каждой зоне.

Результаты исследования:

Результаты.

Относительное количество CD3+T-лимфоцитов было статистически достоверно меньше в глиомах с мутацией IDH1 ($p=0,01$), а относительное количество CD16+NK ($p=0,04$; 13 – 45 CD16+NK в поле зрения) и CD68+макрофагов ($p=0,01$; 10-30 CD68+клеток в поле зрения) – достоверно больше в опухолях по сравнению с группой Э без них. В High-Grade-глиомах CD16+NK было достоверно больше (30 – 55 в поле зрения при x200), чем в Low-Grade-глиомах ($p=0,002$). Статистически достоверно в ОДГ Grade 2 было большее количество активированных CD3+T-лимфоцитов (8 – 29 в поле зрения; $p=0,03$), чем в А Grade 2 и CD68+макрофагов ($p=0,04$) по сравнению с High-Grade-глиомами. Были выявлены значимые корреляции между количеством CD16+, CD68+клеток и Ki-67 ($r=0,49$ и $r=0,47$ соответственно), количеством CD16+ и CD68+клеток ($r=0,69$), CD16+, CD68+ и CD3+клеток ($r=0,36$ и $r=0,52$ соответственно) в опухолях. Также была выявлена значимая

корреляция между Grade глиомы и количеством CD68+клеток($r=0,61$). Не было обнаружено достоверной разницы по количеству клеток воспаления в опухолях и в перитуморозной зоне и не было выявлено корреляции между количеством клеток воспаления и наличием Э, между количеством CD117+телоцитов (в %) и Э. В перифокальной зоне ОДГ, А и ГЛБ (в 62, 50, 50% случаев соответственно) определялась плотная сеть из переплетающихся, вытянутых клеток с длинными отростками, экспрессирующих CD117.

Выводы

Результаты исследования показали выраженную корреляцию объема и состава воспалительного инфильтрата с присутствием глиальной опухоли, степенью ее анаплазии (Grade) и уровнем пролиферативной активности. Взаимосвязи наличия и характера воспалительных явлений с эпилептическим синдромом не выявлено.

Большое количество CD16-позитивных NK-клеток в High-Grade глиомах, их значимая корреляция с числом CD68+микроглии/макрофагов и Ki-67 открывает путь к персонализированной иммунотерапии на основе натуральных клеток-киллеров.

Не определяется корреляция между количеством CD117+телоцитов и Э. По-видимому, основная функция этих клеток в опухоли – регенерация. Тем не менее, электрофизиологические свойства телоцитов и 3D-структура рубцов свидетельствуют о возможности вызывать эпилептическую активность.

Ключевые слова: эпилепсия, глиомы, воспаление, иммуногистохимическое исследование

COMPARATIVE CLINICAL AND MORPHOLOGICAL STUDY OF THE BRAIN IN VARIOUS GLIOMAS IN ASSOCIATION WITH EPILEPSY AND INFLAMMATION

Mitrofanova L.B., Sokolov I.A., Vorobieva O.M., Sterkhova K.A., Ulitin A.Yu.

Almazov National Medical Research Centre

Abstract

Epilepsy (E) is one of the most common neurological diseases. One of the factors of its development is inflammation, which is also associated with glial tumors, whose cells are capable of synthesizing a number of substances that modulate the activity of the inflammatory response [Galvão RP, Zong H., 2013].

Objective: to evaluate the contribution of inflammation to the development of cerebral gliomas and epilepsy

Materials and methods: surgical material of 13 oligodendrogliomas (ODG) (of which 13 with E), 16 astrocytomas (A) Grade 2-4 (of which 12 with E and 4 without), 8 glioblastomas (GLB; of

3 of them with E and 5 without) and areas of the substance of the temporal lobe of 3 patients with focal cortical dysplasia IIb. A histological, immunohistochemical study was performed with antibodies to IDH1(R132H), Ki-67, p53, CXCR4, MHC1, CD3, CD16, CD68, CD117 and FISH in order to search for 1p19q codeletion. The tissue of the tumor and its perifocal zone (the zone of epileptic activity determined by electrocorticography) was studied. The average ratio of the number of cells (in %) with the expression of CD3, CD16, CD68, CD117 to the total number of cells in the field of view at x200 in 10 fields of view in each zone was determined.

Results.

The relative number of CD3+T-lymphocytes was statistically significantly lower in gliomas with IDH1 mutation ($p=0.01$), and the relative number of CD16+NK ($p=0.04$; 13 – 45 CD16+NK per field of view) and CD68+macrophages ($p=0.01$; 10-30 CD68+ cells per field of view) - significantly more in tumors compared to group E without them. In High-Grade gliomas, CD16+NK was significantly higher (30–55 in the field of view at x200) than in Low-Grade gliomas ($p=0.002$). Statistically significant in ODG Grade 2 there was a greater number of activated CD3+T-lymphocytes (8-29 per field of view; $p=0.03$) than in A Grade 2 and CD68+ macrophages ($p=0.04$) compared with High -Grade-gliomas. Significant correlations were found between the number of CD16+, CD68+cells and Ki-67 ($r=0.49$ and $r=0.47$, respectively), the number of CD16+ and CD68+cells ($r=0.69$), CD16+, CD68+ and CD3+cells ($r=0.36$ and $r=0.52$, respectively) in tumors. A significant correlation was also found between Grade of glioma and the number of CD68+cells ($r=0.61$). No significant difference was found in the number of inflammatory cells in tumors and in the peritumoral zone, and there was no correlation between the number of inflammatory cells and the presence of E, between the number of CD117+ telocytes (in %) and E. We found a dense network of intertwining elongated cells with long processes that expressed CD117 in the perifocal zone of ODG, A and GLB (in 62, 50, 50% of cases, respectively).

Conclusion

Our study showed a greater dependence of the amount and composition of the inflammatory infiltrate on the tumor, the degree of its anaplasia (Grade) and proliferative activity, and not on the presence of E.

A large number of CD16-positive NK cells in High-Grade gliomas, their significant correlation with the number of CD68+ microglia/macrophages and Ki-67 opens the way to personalized immunotherapy based on natural killer cells.

We did not find a correlation between the number of CD117+ telocytes and E. Apparently, the main function of these cells in the tumor is regeneration. However, the electrophysiological

properties of telocytes and the 3D structure of scars indicate the possibility of inducing epileptic activity.

Keywords: epilepsy, gliomas, inflammation, immunohistochemical study

Эпилепсией (Э) в мире страдает не менее 70 млн человек, что делает ее одним из самых распространенных неврологических заболеваний [1]. Отдельной формой Э является опухоль-ассоциированная Э., сопровождающая 65% случаев низкодифференцированных глиом и 95% глионейрональных опухолей головного мозга [2]. Патогенез эпилепсии до конца не ясен. В качестве одного из важнейших эпилептогенных факторов рассматривается воспалительные изменения ткани мозга, сопровождающее и глиальные церебральные опухоли [3]. Воспалительный ответ вещества мозга, окружающего глиальную (глионейрональную) опухоль, сложный, с участием нескольких типов клеток: Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов, макрофагов, супрессорных клеток миелоидного происхождения, астроцитов и других. Наконец, сами опухолевые клетки секретируют ряд факторов, модулирующих активность всех упомянутых выше клеток, а также клеток эндотелия [4]. Однако, вместо того, чтобы участвовать в цитотоксической или фагоцитарной активности, ассоциированная с глиомой микроглия имеет тенденцию секретировать цитокины и факторы роста, которые способствуют прогрессирующему делению опухолевых клеток и ангиогенезу. Таким образом, в то время как иммунная система может обнаруживать наличие глиальной опухоли и отвечает мобилизацией/активацией многих типов клеток, этот ответ, по-видимому, переходит из провоспалительного состояния активации в иммуносупрессивное. В настоящее время предпринимаются многочисленные попытки разработать терапевтические стратегии, основанные именно на данной концепции.

Цель исследования: оценить вклад воспаления в развитие церебральных глиом и опухоль-ассоциированной эпилепсии.

Материалы и методы

Материалом исследования послужил следующий операционный материал: 13 олигодендроглиом (ОДГ) Grade 2, 3 (из них все 13 с Э) пациентов 18–60 лет (из них 7 мужчин и 6 женщин), 16 астроцитом (А) Grade 2 – 4 (из них 12 с Э и 4 без) пациентов 26–61 лет (из них 9 мужчин и 7 женщин), 8 глиобластом (ГЛБ; из них 3 с Э и 5 без) пациентов 38–74 лет (из них 4 мужчин и 4 женщин), и участки височной доли 3 пациентов с фокальной кортикальной дисплазией IIb у 3 пациенток 23, 29, 33 лет (все 3 женщины). Выполнялось традиционное гистологическое исследование с окраской гематоксилином и эозином, а

также иммуногистохимическое исследование с антителами к IDH1(R132H), Ki-67, p53, CXCR4, MHC1, CD3, CD16, CD68, CD117 и FISH с целью определения 1p19q-коделеции. Исследовалась ткань опухоли и ее перифокальная зона (зона эпилептической активности, определяемая при помощи электрокортикографии). Определялось среднее количество CD3, CD16, CD68, CD117 на 1мм² и среднее соотношение количества клеток (в %) с экспрессией CD3, CD16, CD68, CD117 к общему количеству клеток в поле зрения при x200 в 10 п/зрения в каждой зоне. Опухоли диагностировались в соответствии с классификацией ВОЗ 2021 [5]. Статистический анализ проводился с помощью Statistica v.10 software (StatSoft, Russia). Для нормальных распределений значимость различий в количественных характеристиках интерпретировали с использованием t-критерия Стьюдента. Для других типов распределения мы использовали непараметрические методы анализа, а именно критерий Манна-Уитни для независимых выборок и критерий Уилкоксона. Различия между группами были определены как достоверные при $p < 0,05$. Чтобы оценить корреляцию двух переменных, мы применили ранговый корреляционный анализ Спирмена. Интерпретация коэффициента корреляции (r): $r < 0,3$: слабая связь; $r = 0,3-0,5$: умеренный; $r = 0,5-0,7$: значимо; $r = 0,7-0,9$: сильный; и $r > 0,9$: очень сильный. Корреляция считалась положительной, если $r > 0$, и отрицательной, если $r < 0$.

Результаты исследования

Во всех случаях в материале, указанном как очаг эпилептической активности, присутствовала не только перифокальная ткань опухоли, но и сама опухоль. Во всех зонах всех случаев выявлялась экспрессия CXCR4 и MHC1.

Исследование олигодендроглиом

Коделеция 1p19q была обнаружена в 9 из 13 случаев (70%), а в 4 случаях (30%) не обнаружена. IDH1(R132H) экспрессировалась в 5 из 13 случаев (39%). В группе было 10 ОДГ Grade 2 и 3 ОДГ Grade 3. Экспрессия MHC1 определялась на сосудах и клетках воспалительного инфильтрата, а в 3 случаях с Э – и на опухолевых клетках (Рис. 1А). В самой опухоли количество CD3-Т-активированных лимфоцитов варьировало от 1 до 42/мм², а в перифокальной зоне – от 1 до 40/мм². Лимфоциты располагались в основном вокруг сосудов. Статистически достоверно в ОДГ Grade 2 (с коделецией 1p19q) было большее количество активированных CD3+Т-лимфоцитов ($p=0,03$), чем в А Grade 2 (Рис.1Б). Клетки с экспрессией CD68 располагались вокруг сосудов и в строме опухоли (Рис. 1В). Причем, в опухоли их было от 50 до 120/мм², они составляли от 10 до 70% клеток в поле зрения. В перифокальной зоне количество микроглии/макрофагов было меньше (2-46/мм²). Статистически достоверно среднее относительное количество этих клеток в поле

зрения ОДГ Grade 3 (в %) было достоверно больше, чем таковое в А Grade 3-4 ($p=0,04$; Рис. 1Г). Количество клеток, экспрессирующих CD16, варьировало от 1 до 140 в п/зрения как в опухоли, так и в перифокальной зоне (от 1 до 100% в поле зрения; Рис. 1Д). В 8 из 13 (в 62%) случаев в перитуморозной зоне ОДГ был рубец из переплетающихся клеток с овальным телом и длинными отростками, формирующих 3D-структуру и экспрессирующих CD117. Во всех случаях они наблюдались в стенках сосудов ОДГ и перитуморозной зоны, а в 3 – вокруг клеток опухоли (ОДГ Grade 2-3; Рис. 1Е).

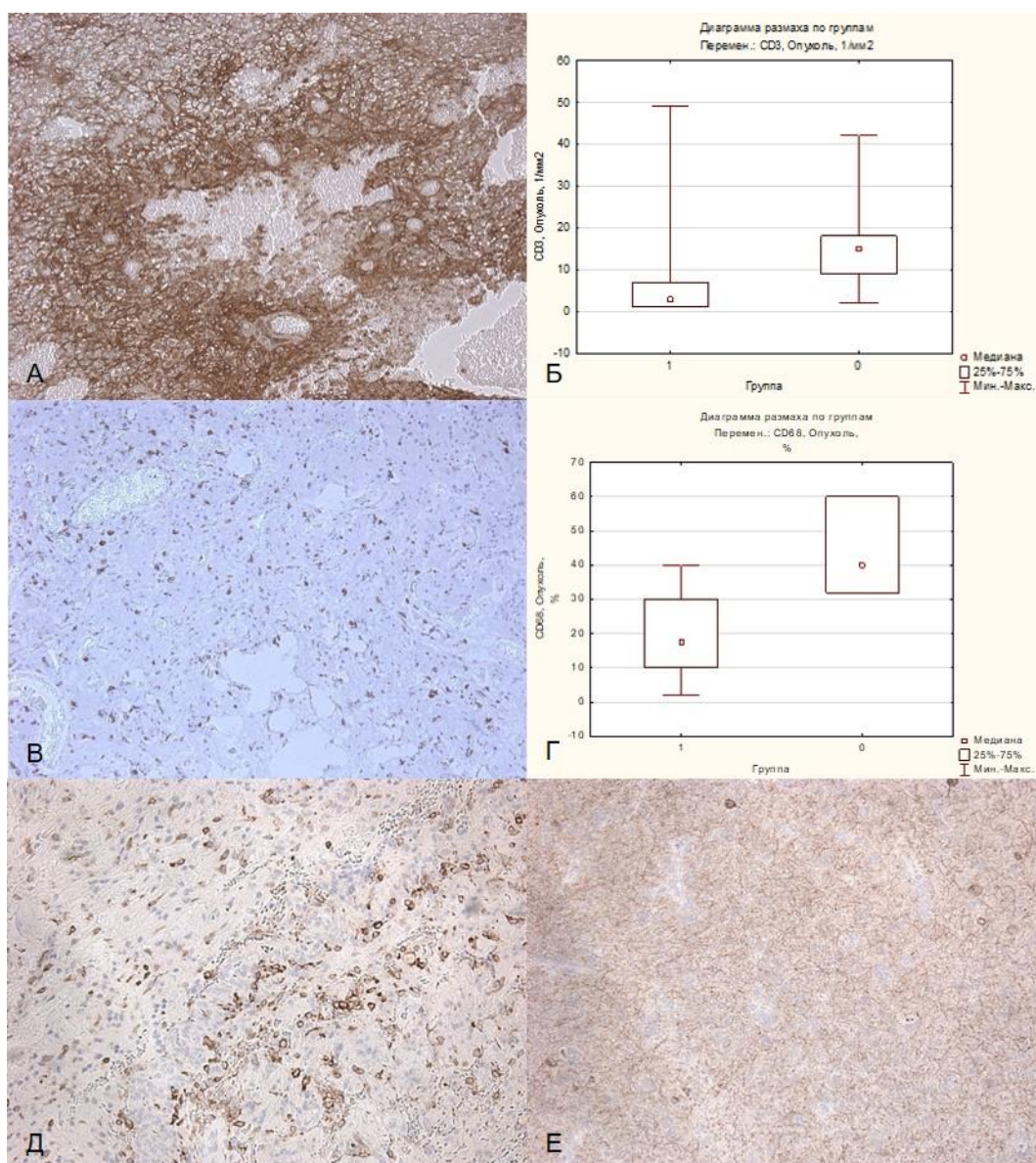


Рис. 1. Олигодендроглиомы. А – экспрессия МНС1 (коричневое окрашивание) на клетках опухоли; $\times 200$. Б – диаграмма значений количества CD3/mm² опухоли. 1 – астроцитомы Grade 2, 0 – олигодендроглиомы Grade 2. В – экспрессия CD68 (коричневое окрашивание) в опухоли; $\times 100$. Г – диаграмма значений количества CD68 (%) в опухоли.

1 – астроцитомы Grade 3-4, 0 – олигодендроглиомы Grade 3. Д – экспрессия CD16, Е – CD117 в опухоли (коричневое окрашивание), x200.

Исследование астроцитом

Экспрессия МНС1 определялась на сосудах и клетках воспалительного инфильтрата, а в 1 случае с Э - и на опухолевых клетках (Рис. 2А). В А количество CD3-Т-активированных лимфоцитов варьировало от 1 до 49/мм², а в перифокальной зоне – от 1 до 10/мм². Лимфоциты располагались вокруг сосудов и фокально в опухоли (Рис.2Б). Статистически достоверно в А (с мутацией IDH1) было меньшее количество активированных CD3+Т-лимфоцитов ($p=0,01$), чем в ГЛБ Grade 4 (без мутации IDH1). Клетки с экспрессией CD68 располагались вокруг сосудов и в строме опухоли. Причем в опухоли они составляли от 1 до 50% клеток в поле зрения. В перифокальной зоне количество микроглии/макрофагов было значительно меньше, как и в ОДГ. Количество клеток, экспрессирующих CD16, составляло от 5 до 70% клеток в поле зрения опухоли. При этом их было явно больше, чем CD68+микроглии/макрофагов. В 8 из 16 (в 50%) случаев в перитуморозной зоне А был рубец из телоцитов - переплетающихся клеток с телоподиями, экспрессирующих CD117. Во всех случаях они наблюдались в стенках сосудов А и перитуморозной зоны.

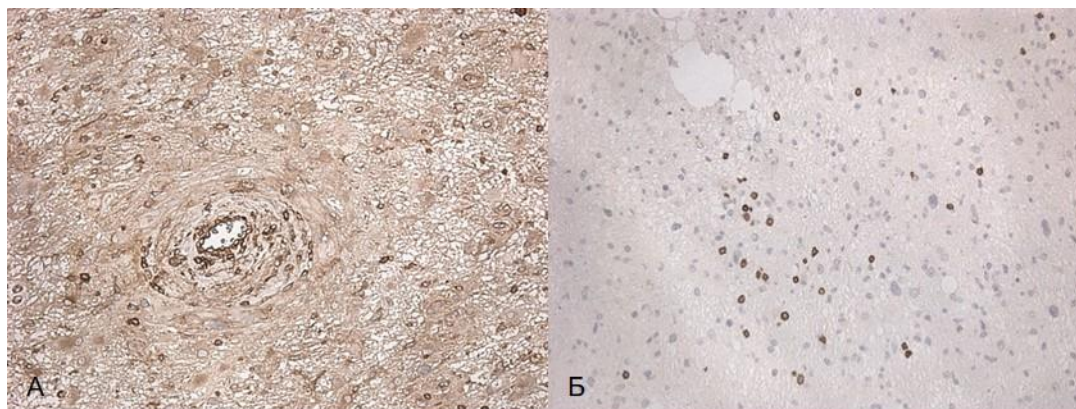


Рис. 2. Астроцитомы. А – экспрессия МНС1 на эндотелии, клетках инфильтрата и опухоли. Б – экспрессия CD3 в опухоли (коричневое окрашивание); x200.

Исследование глиобластом

Экспрессия МНС1 определялась на сосудах и клетках воспалительного инфильтрата, а в 5 случаях из 8 (3 с Э) - и на опухолевых клетках (Рис. 3А). В ГЛБ количество CD3-Т-активированных лимфоцитов варьировало от 1 до 58/мм², а в перифокальной зоне – от 1 до 38/мм². Лимфоциты располагались вокруг сосудов и фокально в опухоли. Клетки с

экспрессией CD68 располагались вокруг сосудов и в строме опухоли. Причем, в опухоли они составляли от 10 до 40% клеток в поле зрения. В перифокальной зоне количество микроглии/макрофагов было значительно меньше (до 10%), либо вообще не было. Количество клеток, экспрессирующих CD16, составляло от 10 до 70% клеток в поле зрения опухоли (Рис. 3Б). При этом их было больше, чем CD68+микроглии/макрофагов, как и в группе А. В 4 из 8 (в 50%; в 2 – без Э) случаев в перитуморозной зоне ГЛБ был рубец из телоцитов, экспрессирующих CD117 (Рис. 3В, Г). Во всех случаях они наблюдались в стенках сосудов А и перитуморозной зоны.

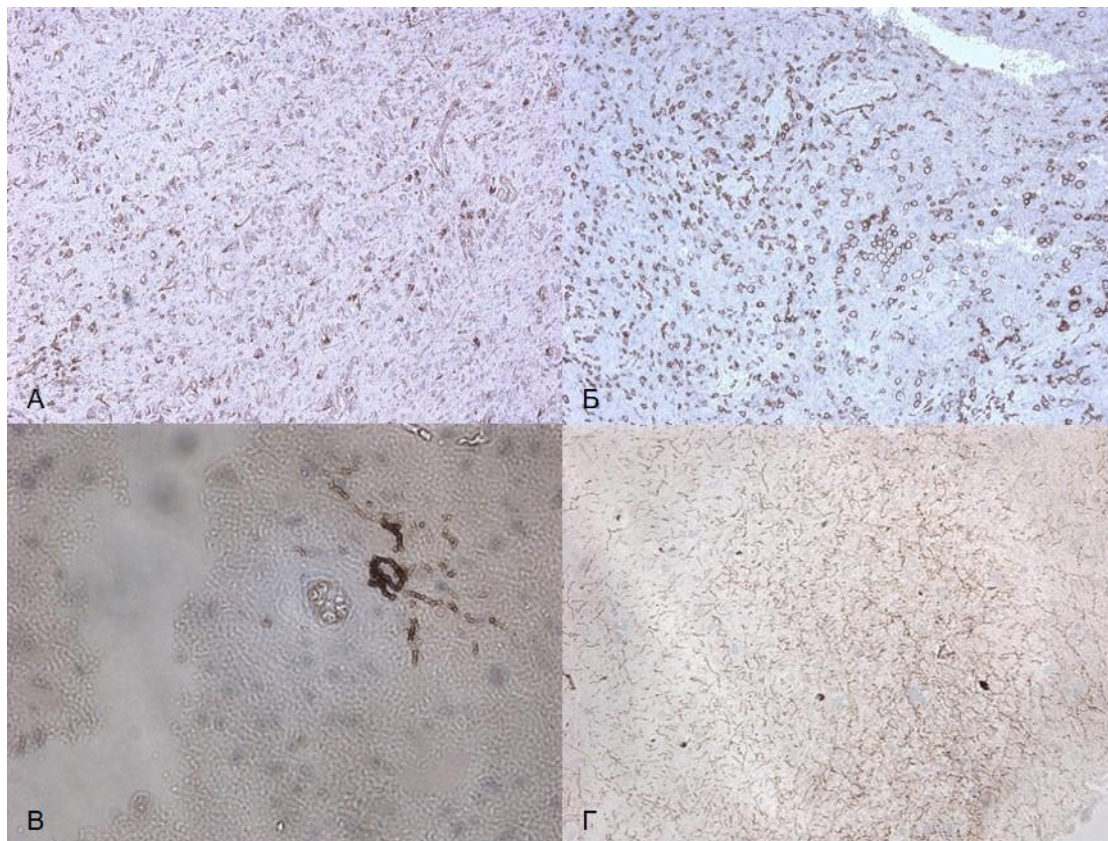


Рис. 3. Глиобластомы (IDH1⁺–). А – экспрессия МНС1 на сосудах, клетках инфильтрата и опухоли. Б – экспрессия CD16 на клетках инфильтрата; x200. В и Г – экспрессия CD117 на телоцитах (коричневое окрашивание); x400 и x200.

Группа сравнения с фокальной кортикальной дисплазией IIb.

Экспрессия CD3 наблюдалась на 1-10 клетках/мм² в 2 случаях и не наблюдалась вообще в 1 случае. Экспрессия CD68 была на 1-4 клетках/мм² в 3 случаях, а CD16 – на 1-33 клетках/мм². Рубец из CD117+клеток был в 2 из 3 случаев.

В целом статистический анализ показал, что достоверно чаще Э наблюдается в ассоциации с глиомами Grade 2, чем с Grade 3 и 4, а количество клеток с экспрессией CD16 и CD68 достоверно больше в группах Э с опухолями, чем без них, тогда как по количеству

CD3-Т-лимфоцитов достоверной разницы нет и нет корреляции между CD3, Grade опухоли и уровнем Ki-67. Кроме того, количество CD16+клеток достоверно больше в глиомах Grade3,4, чем в Grade 2, и есть значимые/умеренные корреляции этого показателя с Grade ($r=0,62$), с Ki-67 ($r=0,49$), равно как и с CD68 ($r=0,69$; Рис. 4). Также были найдены умеренные/значимые корреляции CD68 с Ki-67($r=0,47$), с Grade ($r=0,61$), с CD3 ($r=0,52$) в опухолях.

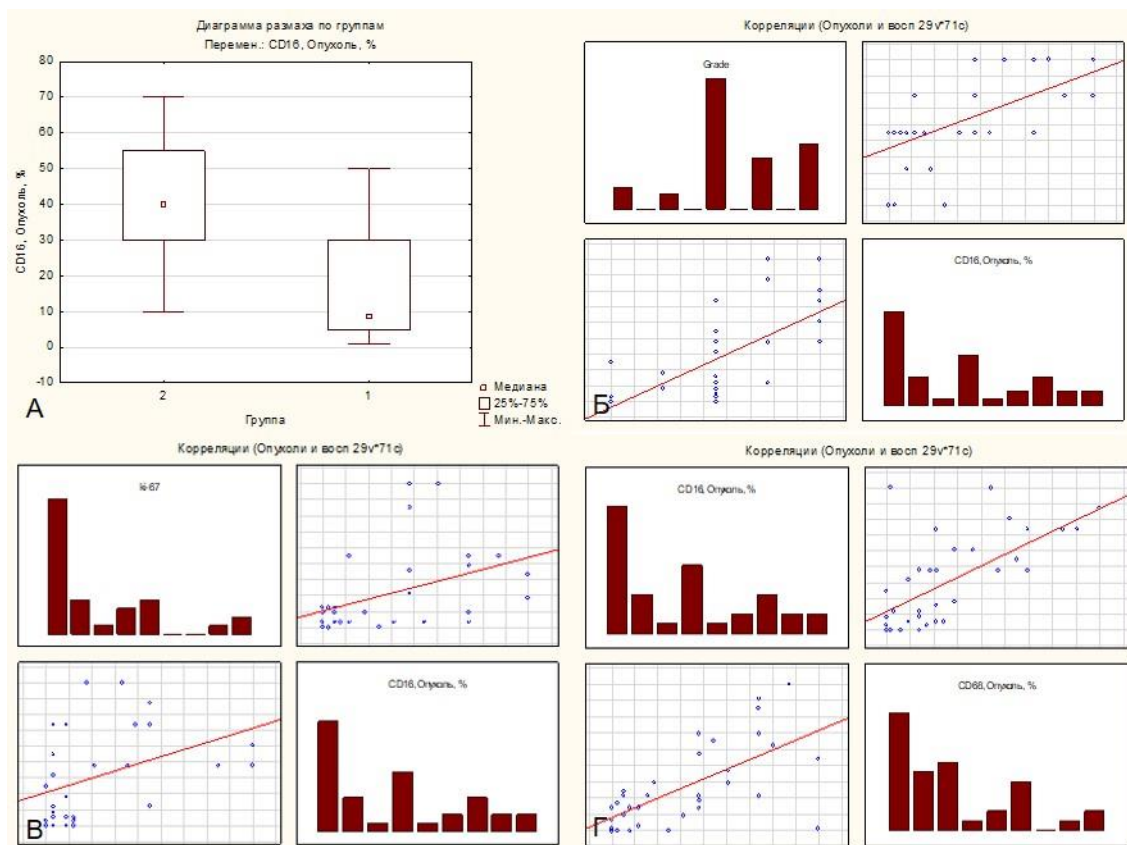


Рис. 4. А – диаграмма значений количества CD16 (%) в опухолях. 1 – глиомы Grade 2, 2 – глиомы Grade 3,4. Корреляции CD16 с: Б- с Grade; В - с Ki-67; Г - с CD68.

Не было обнаружено достоверной разницы по количеству клеток воспаления в опухолях и в перитуморозной зоне и не было выявлено корреляции между количеством клеток воспаления и наличием Э. Также не было корреляции между количеством CD117+телоцитов (в %) и Э.

Обсуждение полученных результатов

Наше исследование показало явную зависимость ассоциации объема воспалительного инфильтрата с опухолью, но не с Э, хотя в последнем случае всегда наблюдалась экспрессия MHC1 и CXCR4. Более того, была установлена значимая связь воспалительного инфильтрата со степенью анаплазии глиомы, что соответствует результатам других исследований [6]. В нашей работе количество CD16+, CD68+клеток коррелировало с Ki-67

и Grade опухоли, а количество CD3+Т-лимфоцитов было достоверно больше в глиомах с отсутствием мутации IDH1 (ГЛБ), по сравнению с IDH1+A. Внутри глиомы микроглия/макрофаги представляют наибольшую популяцию инфильтрирующих опухоль клеток, составляя не менее одной трети от общей массы опухоли. Имеются убедительные доказательства того, что клетки микроглии участвуют в создании микроокружения, способствующего росту глиомы [7,8]. Гетерогенность активации макрофагов обеспечивает основу для концептуальной классификации макрофагов на 2 поляризованные функциональные категории: M1 (классически активируемые макрофаги) и M2 (альтернативно активируемые макрофаги). Активированные поляризованные макрофаги 1-го типа характеризуются преимущественной продукцией высоких уровней провоспалительных цитокинов, таких как IL-12, и окислительных метаболитов, таких как оксид азота, а также проявляют повышенные уровни экспрессии МНС класса II и ко-стимулирующие молекулы CD80 и CD86. Таким образом, эти макрофаги, которые также называют классически активированными макрофагами, проявляют мощную микробицидную/тумороцидную активность, но также вызывают повреждение здоровых тканей в качестве побочного эффекта [9]. M2-макрофаги обычно продуцируют противовоспалительные цитокины, такие как IL-10, и демонстрируют более низкий уровень продукции NO. Кроме того, хотя они все еще усиливают экспрессию молекул МНС класса II, они не эффективны при презентации антигена. Напротив, было обнаружено, что макрофаги M2 способствуют ремоделированию тканей, ангиогенезу и репарации, а также подавляют разрушающие ткани иммунные реакции.

В нашем исследовании мы не идентифицировали тип макрофагов. Нас больше интересовали CD16+клетки. Глиомы Grade 3,4 являются одним из наиболее трудно поддающихся лечению видов злокачественных опухолей. В последнее время иммунотерапия ГЛБ используется вместо обычных методов лечения. Среди них иммунотерапия на основе натуральных клеток-киллеров (NK) обладает лечебным потенциалом благодаря своим свойствам, таким как отсутствие рестрикции реакции антиген-антитело и глубокому проникновению в микроокружение опухоли [10]. В частности, генно-инженерные NK-клетки, такие как химерные антигенные рецепторы (CAR)-NK-клетки, двойные антиген-таргетинговые CAR NK-клетки и адаптерные химерные антигенные рецепторные NK-клетки, считаются важным инструментом для иммунотерапии злокачественных глиом. IFN- γ , продуцируемый NK- и Т-клетками, способствует продукции молекул МНС класса I в опухолевых клетках и может снижать функцию NK-клеток посредством ингибирующего лигирования рецепторов. CD16

связывается с доменом Fc антитела, которое распознает антигены клеточной поверхности ГЛБ своим доменом Fab. Взаимодействие CD16 и антитела стимулирует высвобождение цитотоксических гранул, таких как перфторин, гранулизин и гранзим. Повышенные уровни CD16+моноцитов были обнаружены в периферической крови пациентов с глиомами методом проточной цитометрии [11]. В то же время, другие исследователи описывают отдельных пациентов с ГЛБ с очень высоким относительным количеством CD16-позитивных NK-клеток, что указывает на активацию NK-клеток [12, 13]. На наш взгляд, обнаружение CD16+моноцитов в глиомах, значимая корреляция их количества с Ki-67 и степенью анаплазии опухоли является важным результатом проведенного исследования и открывает путь к персонифицированной иммунотерапии на основе натуральных клеток-киллеров (NK).

В ряде случаев ОДГ, А и ГЛБ экспрессия антитела иммуногистосовместимости 1 класса МНС1 наблюдалась не только на сосудах и клетках инфильтрата, но и на опухолевых клетках, что по-видимому, свидетельствует о том, что сами клетки активируются и становятся модуляторами воспаления. Основная функция МНС-I и МНС-II молекул — связывание пептидных фрагментов, полученных при внутриклеточном расщеплении белковых молекул, и презентация этих пептидов на поверхности клеток для распознавания Т- и NK-клеточными рецепторами. Такие клетки быстро распознаются Т-лимфоцитами и разрушаются иммунной системой. Презентация собственных белков на поверхности клеток чрезвычайно важна, так как иммунная система постоянно отслеживает и уничтожает не только инфицированные, но и поврежденные или измененные клетки [14, 15].

Мы не выявили корреляции между количеством CD117+телоцитов (в %) и Э. Вне зависимости от наличия или отсутствия Э, в перитуморозной зоне (зоне эпилептической активности, определяемой при помощи электрокортикографии) у пациентов с ОДГ (в 62% случаев), с А (в 50% случаев) и с ГЛБ (в 50% случаев) были выявлены рубцы из телоцитов, которые могут быть морфологическим субстратом эпилептической активности. Телоциты (или интерстициальные пейсмекеры) обладают способностью генерировать и проводить электрический импульс [16]. Они были описаны в нормальном головном мозге [17, 18], найдены в глиобластоме [19]. Доказано, что телоциты имеют тесные контакты со всеми видами клеток. Они экспрессируют connexin-43 – белок щелевых контактов и HCN4. В свою очередь, коннексины и щелевые контакты нейронов, объединяя определенные типы тормозных гиппокампальных и неокортикальных нейронных ансамблей, обеспечивают синхронизацию локальной импульсной и ритмической активности, таламокортикальное проведение, контроль возбуждающих связей [20]. Известно так же, что HCN1-ток обладает

наиболее быстрой кинетикой активации, а HCN4 — самой медленной. Были выявлены сложные изменения в эпилептических очагах, которые зависят от конкретного типа клеток и области мозга и могут включать измененные потенциал-зависимые ионные каналы, синаптическую передачу, связность, избирательную потерю нейронов [21]. Известно также, что HCN4 кодирует активированный гиперполяризацией калиевый канал 4, управляемый циклическим нуклеотидом. Каналы HCN4 распределены в неокортексе, мозжечке, гиппокампе, спинном мозге, таламусе, полосатом теле, бледном шаре, уздечке. Их можно найти в нейронах, которые регулируют спонтанную ритмическую активность, например, в черной субстанции, холинергических интернейронах, а также в астроцитах и микроглии [22, 23]. Каналы HCN4 активируются гиперполяризующими потенциалами. Следовательно, они участвуют в повышенной возбудимости нейронов, наблюдаемой при судорогах. Более того, в качестве противосудорожных препаратов уже разрабатываются селективные блокаторы HCN4 [24]. Множественность изменений, обнаруживаемых в большинстве хронических эпилептических очагов, представляет собой сложную смесь про- и антиэпилептических механизмов и, несомненно, некоторых эпифеноменов, которые, вероятно, будут прогрессировать с течением времени, частично в ответ на повторные эпилептические припадки. Кроме того, интерстициальные пейсмекеры образуют 3D-структуру, которая сама по себе может способствовать эпилептической активности по типу механизма re-entry. Наиболее вероятно, в опухолях центральной нервной системы телоциты несут регенераторную функцию, восстанавливая связи между клетками, а в некоторых случаях и замещая их.

Выводы

Результаты исследования показали выраженную корреляцию объема и состава воспалительного инфильтрата с присутствием глиальной опухоли, степенью ее анаплазии (Grade) и уровнем пролиферативной активности. Взаимосвязи наличия и характера воспалительных явлений с эпилептическим синдромом не выявлено.

Большое количество CD16-позитивных NK-клеток в High-Grade глиомах, их значимая корреляция с числом CD68+микроглии/макрофагов и Ki-67 открывает путь к персонализированной иммунотерапии на основе натуральных клеток-киллеров.

Не определяется корреляция между количеством CD117+телоцитов и Э. По-видимому, основная функция этих клеток в опухоли — регенерация. Тем не менее, электрофизиологические свойства телоцитов и 3D-структура рубцов свидетельствуют о возможности их участия в эпилептогенезе.

Список литературы

1. Thijs RD, Surges R, O'Brien TJ, Sander JW. Epilepsy in adults. *Lancet*. 2019;393(10172):689 – 701
2. Chen DY, Chen CC, Crawford JR, Wang SGJ. Tumor-related epilepsy: epidemiology, pathogenesis and management. *Neurooncol*. 2018;139(1):13 – 21.
3. Vezzani A, French J, Bartfai T, Baram TZ. The role of inflammation in epilepsy. *Nat Rev Neurol*. 2011;7(1):31-40
4. Galvão RP, Zong H. Inflammation and Gliomagenesis: Bi-Directional Communication at Early and Late Stages of Tumor Progression. *Curr Pathobiol Rep*. 2013;1(1):19-28.
5. Louis DN, Perry A, Wesseling P, Brat DJ, et al. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro Oncol*. 2021;23(8):1231-1251.
6. Li W, Graeber MB. The molecular profile of microglia under the influence of glioma. *Neuro Oncol*. 2012;14(8):958-78.
7. Kerber M, Reiss Y, Wickersheim A, et al. Flt-1 signaling in macrophages promotes glioma growth in vivo. *Cancer Res*. 2008;68(18):7342–7351.
8. Zhai H, Heppner FL, Tsirka SE. Microglia/macrophages promote glioma progression. *Glia*. 2011;59(3):472–485.
9. Martinez FO, Sica A, Mantovani A, Locati M. Macrophage activation and polarization. *Front Biosci*. 2008;13:453–461.
10. Hosseinalizadeh H, Habibi Roudkenar M, Mohammadi Roushandeh A, et al. Natural killer cell immunotherapy in glioblastoma. *Discov Onc*. 2022;13:113.
11. Lehman N, Kowalska W, Zarobkiewicz M, Mazurek M, et al. Anti-Inflammatory Features of Monocyte Subsets in Glioma Patients. *Int J Mol Sci*. 2023;24(3):1879.
12. Mostafa H, Pala A, Högel J, et al. Immune phenotypes predict survival in patients with glioblastoma multiforme. *J Hematol Oncol*. 2016;9(1):77.
13. González-Tablas Pimenta M, Otero Á, Arandía Guzman DA, Pascual-Argente D, et al. Tumor cell and immune cell profiles in primary human glioblastoma: Impact on patient outcome. *Brain Pathol*. 2021;31(2):365-380.
14. Kärre K. Natural killer cell recognition of missing self. *Nature Immunology*. 2008;9(5): 477–480.
15. Rock KL, Reits E, Neefjes J. Present Yourself! By MHC Class I and MHC Class II Molecules. *Trends in Immunology*. 2016;37(11):724–737.
16. Митрофанова ЛБ, Бобков ДЕ, Оганесян МГ, Карпушев АВ, и др. Исследование электрофизиологических свойств телецитов атриовентрикулярного узла и перифокальной

зоны синусного узла у человека и свиньи. Российский кардиологический журнал. 2020;25(12):3927.

17. Popescu BO, Gherghiceanu M, Kostin S, Ceafalan L, Popescu LM. Telocytes in meninges and choroid plexus. *Neurosci Lett*. 2012;516:265–69.
18. Митрофанова ЛБ, Хазратов АО, Красношлык ПВ, Воробьева ОМ, и др. Морфологическое исследование телоцитов в различных отделах головного мозга взрослого человека. Medline.ru Российский биомедицинский журнал. 2018;19:281-306.
19. Mitrofanova L, Hazratov A, Galkovsky B, Gorshkov A, et al. Morphological and immunophenotypic characterization of perivascular interstitial cells in human glioma: Telocytes, pericytes, and mixed immunophenotypes. *Oncotarget*. 2020;11:322-346.
20. Кириченко ЕЮ, Скачков СН, Ермаков АМ. Структура и функции щелевых контактов и составляющих их коннексинов в ЦНС млекопитающих. Биологические мембраны: Журнал мембранной и клеточной биологии. 2021;38(2):83-97.
21. Jefferys JG. Advances in understanding basic mechanisms of epilepsy and seizures. *Seizure*. 2010;19(10):638-46.
22. Kessi M, Peng J, Duan H, He H, et al. The Contribution of HCN Channelopathies in Different Epileptic Syndromes, Mechanisms, Modulators, and Potential Treatment Targets: A Systematic Review. *Front Mol Neurosci*. 2022;15:807202
23. Vay SU, Flitsch LJ, Rabenstein M, Monière H, et al. The impact of hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated (HCN) and voltage-gated potassium KCNQ/Kv7 channels on primary microglia function. *J Neuroinflammation*. 2020;17(1):100.
24. Kharouf Q, Phillips AM, Bleakley LE, et al. The hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated 4 channel as a potential anti-seizure drug target. *Br J Pharmacol*. 2020; 177:3712–3729.