

УДК 616.831.006:612.438.014

Фенотипическая характеристика клеток внутричерепных опухолей у детей

Лисяньї Н.И., Орлов Ю.А., Потапова А.И., Лисяньї А.Н.,
Шаверський А.В., Примушко Л.И.

Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова АМН Украины, г. Киев, Украина

На основании изучения экспрессии нейрональных молекул клеточной адгезии (НМКА) на клетках внутричерепных опухолей у детей установлено, что их значительно чаще выявляют на астроцитомах, чем на медуллобластомах.

Рецепторы апоптоза (Fas-рецептор) и активационные рецепторы (CD38, CD25) представлены в равной мере как на астроцитомах, так и на медуллобластомах.

Разная степень экспрессии НМКА на клетках опухолей может быть обусловлена различной способностью к метастазированию и инфильтративному росту: чем меньше НМКА на клетках, тем выше способность опухоли к метастазированию.

Ключевые слова: молекулы клеточной адгезии, нейрональная молекула адгезии, астроцитомы, медуллобластомы.

Скорость роста, распространенность, объем и структура той или иной опухоли зависят от ее биологических свойств, в частности, вида генетических нарушений в клетке, особенностей метаболизма и васкуляризации, структуры клеточных мембран, наличия разных рецепторов и поверхностных структур, которые определяют ее фенотипическую характеристику. Важное значение имеет изучение экспрессии различных ростстимулирующих и апоптозиндуцирующих рецепторов и молекул клеточной адгезии (МКА) на различных опухолевых клетках. Среди них НМКА играют важную роль в адгезии, миграции и росте нервных клеток в онтогенезе, а также при опухолевом росте, определяя его инфильтрирующий характер, прилипание к внеклеточному матриксу клеток и способность к метастазированию [3, 4, 6, 7, 11, 14, 17, 19, 21].

Наряду с НМКА, представляется важным исследование и других адгезивных молекул, в частности, CD34 и CD38, экспрессирующихся в основном на стволовых плюрипотентных клетках, эндотелии сосудов и многих прогениторных клетках [12, 16, 23], функцию которых связывают не только с миграцией стволовых клеток, но и пролиферацией и дифференцировкой [13, 16]. Особый интерес к CD43 и CD38 молекулам обусловлен еще и тем, что во внутричерепных опухолях у детей — астроцитомах выявляют до 25% стволовых нервных клеток, экспрессирующих CD133+ молекулу и до 12% — клеток, экспрессирующих CD34+ молекулу, свойственную плюрипотентным стволовым гематогенным клеткам [15]. Это позволяет предположить наличие в опухолях мозга у детей, особенно в медуллобластомах, развивающихся из медуллобластов, большого количества стволовых клеток,

способных дифференцироваться в глиальные и нейрональные клетки или в опухолевые клетки [18, 23].

Так, стволовые полипотентные клетки, выделенные из кожи, мезенхимы или костного мозга и кордовой крови при определенных условиях дифференцируются *in vivo* и *in vitro* в нервные клетки [2, 18, 20, 23, 24]. Наряду с экспрессией МКА, важной фенотипической характеристикой опухолей является наличие активационных и апоптогических рецепторов на опухолевых клетках, а также активность основного онкосупрессорного гена p-53. Из апоптогических рецепторов наиболее глубоко изучен Fas-рецептор апоптоза (CD95), который воспринимает сигнал от иммунных клеток и экспрессируется как на нормальных, так и на опухолевых клетках [1].

Целью работы было изучение распределения некоторых МКА (CD34, CD38), рецепторов апоптоза — Fas-рецептора (CD95), рецептора роста — рецептора интерлейкина-2 (ИЛ-2) — CD25, а также содержание p-53 антигена на клетках медуллобластом, астроцитом и эпендимом у детей.

Материалы и методы исследования. Изучена фенотипическая характеристика клеток внутричерепных опухолей у 63 больных, оперированных в клинике, в основном детского возраста (48 больных в возрасте до 15 лет). Гистологическую идентификацию типа опухоли проводили в соответствии с классификацией опухолей головного мозга [5], у 41 пациента диагностирована медуллобластома, у 16 — астроцитомы, у 6 — эпендимомы с астроцитарной дифференцировкой.

Материал для фенотипических исследований забирали из ткани опухоли, удаленной во

время операции. Время от взятия материала до начала исследований не превышало 30–40 мин. Клетки из кусочка опухоли, удаленного во время операции и погруженного в стерильный изотонический раствор натрия хлорида, выделяли по классической стандартной методике. Кусочки опухоли отделяли от оболочек, сгустков крови и видимых сосудов, измельчали ножницами в среде 199, затем дезагрегировали препаративными иглами. Далее клетки фильтровали через 2 слоя стерильной марли и по стандартным методикам определяли их количество и процент жизнеспособных по окрашиванию в 0,1% растворе трипанового синего. В работу брали клеточную взвесь, содержащую не менее 80% жизнеспособных клеток. Затем 50 мкл суспензии клеток в концентрации 1×10^7 в 1 мл смешивали с моноклональными антителами в рабочем разведении в соответствии с рекомендациями фирм-изготовителей антител. Количество окрашенных моноклональными антителами клеток подсчитывали с помощью прибора FACSCalibur (Becton Dickinson).

Экспрессию антигенных структур на клетках опухолей исследовали с помощью моноклональных антител. НМКА изучали с использованием моноклональных антител к CD56, Fas-рецептор апоптоза и рецептор интерлейкина-2 на клетках — антител к CD95 и CD25. Активность гена p-53 определяли по экспрессии протеинового продукта этого гена в клетках медуллобластом с помощью моноклональных антител к антигену p-53. В непораженных тканях уровень этого антигена p-53 невысок, в злокачественных клетках — уровень экспрессии этого белка возрастает [4].

Учитывая, что исследуемые опухоли выявляют в раннем возрасте, а медуллобластома развивается из недифференцированных медуллобластов, определяли экспрессию адгезивных антигенов на этих клетках, характерных для клеток-предшественниц и стволовых клеток. Это антигены CD34 и CD38, которые присутствуют на гемопоэтических и нервных стволовых клетках-предшественницах и участвуют в процессах пролиферации и реакциях межклеточной адгезии [4, 16].

В качестве контроля, для учета примеси во взвеси других клеток, в частности, лимфоцитов использовали антитела CD3, выявляющие T-клеточный рецептор лимфоцитов.

Статистическую обработку цифрового материала проводили с помощью компьютерного пакета программ "Statgraf" с определением (M+m) и показателя достоверности P.

Результаты и их обсуждение. При изучении экспрессии МКА на клетках внутримозговых опухолей у детей с помощью

моноклональных антител к определенным МКА выявлены различия количества клеток, экспрессирующих ту или иную адгезивную молекулу. Наиболее активно экспрессируются на клетках как медуллобластом, так и астроцитом и эпендимоастроцитом НМКА (CD56), которые представлены на каждой 3–4-й клетке опухолей. Так, астроцитомы у детей содержат до 35% клеток, экспрессирующих CD56 молекулу — $(34,78 \pm 3,52)\%$, тогда как среди клеток эпендимом выявляют несколько меньше CD56+ клеток — $(27,5 \pm 6,5)\%$. Наименьшее количество CD56+ клеток содержится в медуллобластомах — всего $(23,9 \pm 1,9)\%$, количество их достоверно ниже, чем в астроцитомах.

В исследованиях установлено, что астроцитомы и эпендимомы содержат значительно больше клеток, экспрессирующих НМКА, ответственных за адгезию клеток между собой и на внеклеточном матриксе. Учитывая, что только медуллобластома, в отличие от астроцитом и эпендимом, обладает способностью к метастазированию как в пределах мозга, так и по кровеносному руслу, можно предположить, что это обусловлено отсутствием или малым количеством клеток, экспрессирующих эту высокоактивную молекулу, и наоборот, большое количество CD56+ клеток препятствует метастазированию, отрыву и миграции опухолевых клеток из основной зоны роста.

Важным обстоятельством для оценки экспрессии МКА на различных клетках организма является учет, а точнее, исключение других клеток, которые могут нести на своей поверхности НМКА, в частности, лимфоцитов гематогенного или паренхиматозного происхождения, которые могут попадать во взвесь клеток опухоли при их выделении. В связи с этим, чтобы уточнить степень примеси лимфоцитов во взвеси опухолевых клеток, определяли содержание клеток, несущих лимфоцитарно-T-клеточный рецептор (CD3), во взвеси свежeweделенных клеток. Результаты этого исследования (табл. 1) свидетельствуют, что T-лимфоцитов было не более 5–8% всех клеток, что подтверждает присутствие во взвеси опухолевых клеток незначительной части других клеток, количество которых не зависело от вида опухоли.

Поскольку опухоли мозга образуются в раннем детском возрасте, представлялось важным исследовать в этих опухолях наличие фенотипических маркеров, характерных для стволовых эмбриональных клеток, в частности, молекул CD34 и CD38, которые экспрессируются на эмбриональных стволовых плюрипотентных клетках и их последующих популяциях.

При исследовании содержания клеток, экспрессирующих молекулу CD34, установлено, что

Таблица 1. Содержание клеток с различными маркерами на внутримозговых опухолях, экспрессирующих МКА

Гистологический вариант опухоли	Возраст больных, лет	Количество клеток с различными маркерами, % от общего количества клеток опухолевой взвеси			
		CD34	CD38	CD56	CD3
Медуллобластома (n=41)	8,37±1,6	4,25±0,8	14,8±1,5	23,9*±1,9	6,3±1,2
Астроцитомы (n=13)	9,15±1,8	9,78±3,6	14,26±3,69	34,78±3,52	7,5±1,7
Эпендимома (n=6)	5,08±2,5	9,19±7,7	19,4±7,6	27,5±6,6	5,42±4,2

Примечание. * — Различия показателей достоверны по сравнению с таковыми у детей с астроцитомой (P<0,05).

в астроцитомах и эпендимомах таких клеток было до 10%, тогда как в медуллобластомах — в 2 раза меньше (всего 5%), вместо ожидаемого большего числа клеток, экспрессирующих эту молекулу, так как нейробласт стоит ближе к стволовой клетке, чем другие клетки. В то же время молекулу CD38, представляющую собой мембранный гликопротеид II типа и экспрессированную на активированных Т- и В-лимфоцитах, выявляли в целом в 2 раза чаще, чем молекулу CD34, и она содержалась на 15–20% опухолевых клеток.

Следовательно, если молекула CD38 экспрессирована примерно на одинаковой части опухолевых клеток, независимо от гистологической структуры опухоли (медуллобластома, астроцитомы или эпендимома) это, по-видимому, отражает процесс пролиферации или активации опухолевых клеток, так как эта молекула характеризует активацию клеток. Таких клеток, экспрессирующих CD38, примерно одинаковое количество в этих гистологических вариантах опухолей, что свидетельствует о примерно одинаковом количестве активированных опухолевых клеток в этих опухолях.

Второй особенностью распределения молекул CD34 и CD38 на клетках исследованных опухолей было то, что молекул CD34 выявляли меньше (в среднем от 4 до 10%), следовательно, в этих опухолях только незначительная часть клеток сохранила признак эмбриональных стволовых клеток, а большинство опухолевых клеток лишены этого маркера, поскольку при прогрессировании они утратили этот антиген. Но с другой стороны, возникает вопрос, какова роль этих 5–10% клеток в опухоли, не являются ли они источником роста опухоли? Этот антиген, кроме стволовых клеток, экспрессируется на эндотелиальных клетках, нейронах, клетках стромы [4], что свидетельствует о его важной роли в адгезии и межклеточном взаимодействии. По-видимому, дальнейшие исследования в этой области позволяют уточнить значение этой молекулы в образовании опухолей у детей, так как известна его роль в возникновении острого лейкоза. Учитывая, что в наших исследованиях среди опухолевых клеток была примесь 5–8%

лимфоцитов, нельзя исключить, что часть этих МКА, а именно CD34 и CD38, экспрессированные именно на этих клетках, не имеют прямого отношения к опухолям мозга, а являются случайной примесью. Но если даже вычтеть из общего количества клеток, положительных по МКА, CD3+ клетки, остается еще значительная часть клеток, экспрессирующих эти антигены.

Сопоставляя результаты исследований 3 МКА (CD56, CD34, CD38), можно сделать заключение, что в астроцитомах и эпендимомах они представлены наиболее часто, тогда как для медуллобластом характерно более низкое содержание этих клеток. Кроме того, установлены различия между содержанием этих МКА даже в типичных астроцитомах и эпендимомах: в астроцитомах в большем количестве клеток содержится молекула CD56, а в эпендимомах — CD38, при равном количестве CD34. Учитывая, что имеются различия в экспрессии МКА на клетках опухоли, можно предположить, что это имеет отношение и к клиническим проявлениям опухолевого процесса, и к темпам и направленности роста опухоли, что требует проведения дополнительных исследований.

В связи с различной экспрессией клетками опухолей МКА представляется важным и интересным изучить наличие активационных и апоптотических рецепторов в этих опухолях. В качестве апоптоз-индуцирующих мембранных рецепторов была избрана молекула Fas-рецептора (CD95), представленная на многих клетках организма, в т.ч. на опухолях [1] и через которую иммунокомпетентные клетки организма способны передавать сигнал к апоптозу. В качестве активирующей и стимулирующей пролиферацию структуры избран рецептор ИЛ-2 — молекула CD25, которая представлена на Т- и В-лимфоцитах, макрофагах, моноцитах, эндотелиальных клетках и способна передавать сигнал к активации и пролиферации этих клеток [4]. При изучении количества клеток опухолей, содержащих эти два разнодействующих рецептора, установлено, что рецептор апоптоза экспрессируется примерно одинаково — на 18–22% опухолевых клеток, независимо от гистологической структуры опухоли (*табл. 2*).

Таблица 2. Содержание клеток, экспрессирующих опухолевые, апоптотические, пролиферативные маркеры внутримозговых опухолей у детей

Гистологический вариант опухоли	Возраст больных, лет	Количество клеток с различными маркерами, % от общего количества клеток опухолевой взвеси		
		CD95	CD25	CD53
Медуллобластома (n=41)	8,37±1,6	18,5±2,4	14,3±2,4	13,6±1,3*
Астроцитомы (n=13)	9,15±1,8	22,4±7,5	14,2±1,9	27,06±6,8
Эпендимома (n=6)	5,08±2,5	17,2±7,8	16,18±5,5	12,8±7,1

Примечание. * — Различия показателей достоверны по сравнению с таковыми у детей с астроцитомой ($P < 0,05$).

В медуллобластомах и эпендимомах несколько снижено содержание клеток (17–18%), экспрессирующих этот рецептор, по сравнению с таким в астроцитомах (22%). Аналогичная ситуация отмечена при исследовании экспрессии CD25 рецептора клетками этих опухолей — в среднем до 14–17% клеток содержат рецептор для ИЛ-2. Полученные результаты дают основание утверждать, что только около 20% клеток как астроцитом, так и медуллобластом экспрессируют рецептор апоптоза и, вероятно, способны посредством этого рецептора подвергаться апоптозу. Основная часть опухолевых клеток (около 80%) не имеют этого рецептора и, следовательно, их апоптотическая гибель посредством взаимодействия с этим рецептором невозможна, т.е. эти опухоли устойчивы к индукции апоптоза через Fas-рецепторный путь. Нужно отметить, что в данном случае речь идет лишь об одном из десяти путей или более индукции апоптоза. Но все же важно то, что около 20% клеток опухолей имеют этот рецептор апоптоза и, следовательно, посредством этого механизма можно достичь уменьшения количества опухолевых клеток примерно на 20%. Можно также предполагать, что, экспрессировав этот рецептор, опухолевые клетки вошли в процесс физиологического апоптоза, и этот процесс относительно больше выражен в астроцитомах, чем в медуллобластомах и эпендимомах, что в целом согласуется с данными морфологических и иммуногистохимических исследований, в которых выявлено больше изменений в астроцитомах, чем в эпендимомах и медуллобластомах.

Низкая (до 15%) экспрессия ростстимулирующего рецептора ИЛ-2 (CD25) на клетках опухоли указывает, что эти опухоли получают активационные сигналы в основном за счет других экзо- и эндогенных стимуляторов пролиферации, таких как инсулиноподобный, фибробластный и другие рецепторы роста. Низкая экспрессия этого рецептора на опухолях, особенно астроцитомах и медуллобластомах, свидетельствует, что эти опухоли нечувствительны к действию ИЛ-2, который рекомендуют в

качестве иммунотерапевтического средства для активации противоопухолевого иммунитета, и применение которого ограничено опасностью стимуляции роста опухоли. В проведенных исследованиях как раз и показано, что только до 15% клеток содержат этот рецептор, поэтому риск стимуляции роста опухоли при применении в качестве иммунотерапевтического препарата ИЛ-2 незначителен. На вопрос, способен ли ИЛ-2 прямо стимулировать рост и пролиферацию опухолевых клеток, можно ответить лишь после проведения соответствующих дополнительных исследований в культуре опухолевых клеток *in vitro*. Важное значение в онкологии, в т.ч. нейроонкологии, имеют онкогены и гены-супрессоры, среди них на первом месте ген p-53, мутацию которого выявляют в большинстве опухолей человека, а белок гена p-53 обнаруживают в различных опухолях иммуногистохимическими методами с помощью моноклональных антител. При исследовании с помощью этих моноклональных антител методом проточной цитофлуориметрии в медуллобластомах и эпендимомах отмечено до 13% клеток, экспрессирующих этот белок, в то время, как в астроцитомах было 27% клеток, содержащих этот антиген. Установлены достоверные различия содержания опухолевых клеток, экспрессирующих p-53 белок, в астроцитомах и медуллобластомах. В то же время, несмотря на двукратное различие содержания этих клеток в эпендимомах и астроцитомах, учитывая малое число исследований эпендимом, эти различия нельзя считать достоверными.

Следовательно, в астроцитомах в значительно большем количестве клеток выявляют повышенное содержание p-53, чем в медуллобластомах, что свидетельствует о большем значении нарушений этого гена при этих опухолях, что, в общем, соответствует данным литературы, указывающим на более частые нарушения функции гена p-53 в глиальных опухолях, чем в медуллобластомах или эпендимомах [25].

Суммируя результаты проведенных исследований, можно сказать, что на наиболее распространенных у детей внутримозговых

опухолях — медуллобластомах и астроцитомах — достаточно широко представлены МКА, особенно НМКА CD56, которую выявляют в 20–28% наблюдений, что согласуется с данными иммуногистохимических исследований, указывающих на экспрессию этих молекул на клетках [19, 21, 22]. Количественная характеристика этих молекул на клетках опухоли позволяет глубже проанализировать, а возможно и прогнозировать течение опухолевого процесса. Различия, установленные не только между медуллобластомами и астроцитомами, но и эпендимомы и астроцитомами, могут быть использованы в качестве лабораторных критериев оценки этих опухолей. Так, медуллобластомы характеризуются меньшим содержанием клеток, экспрессирующих молекулы всех исследованных МКА, чем астроцитомы или эпендимомы. В то же время, активированные и апоптотические рецепторы экспрессированы практически на одинаковом количестве клеток, что позволяет думать, что в этих опухолях исследованные рецепторы функционально не связаны с Fas-рецептором и рецептором ИЛ-2.

При исследовании количества клеток, экспрессирующих протеин p-53, показано, что в астроцитомах достоверно больше (практически в 2 раза), клеток, характеризующихся гиперпродукцией протеина p-53, чем в медуллобластомах, что соответствует результатам иммуногистохимических исследований [25].

Меньшее содержание МКА в медуллобластомах можно рассматривать как критерий склонности опухоли к миграции и метастазированию, на что указывают данные литературы. Кроме того, низкое содержание в медуллобластомах клеток, экспрессирующих маркер стволовых клеток (молекулу CD34), свидетельствует, что, несмотря на происхождение медуллобластом из нейробластов, доля клеток опухоли, которые можно отнести к ранним потомкам стволовых клеток, незначительна (в среднем 5%), тогда как в астроцитомах и эпендимоме их несколько больше — до 8–10%. Выявление клеток, экспрессирующих этот маркер, в опухолях различной гистологической структуры, позволяет думать о присутствии в этих опухолях небольшой популяции постстволовых клеток, которые, вероятно, и определяют в дальнейшем прогрессирование опухоли при наличии соответствующих условий и сигналов, а различия количества клеток, содержащих этот маркер, требует дополнительных исследований по выделению и идентификации клеток, экспрессирующих эту молекулу. Наличие в астроцитарных опухолях у детей опухолевых клеток, экспрессирующих молекулу CD34, показано ранее [15], их содержание в опухолях составляло до 12%. Не исключено, что

наличие в опухолях CD34+ стволовых клеток может быть связано не со злокачественной трансформацией клеток, а с эндотелием сосудов опухоли. Это подтверждают экспериментальные работы, в которых показано, что при введении костномозговых стволовых CD34+ клеток взрослых животных в мозг других животных они накапливались в эндотелии сосудов, растущих в имплантированную опухоль, и трансформировались в эндотелиальные клетки, сохраняя экспрессию молекулы CD34. В сосудах и паренхиме непораженного мозга по данным иммуногистохимических исследований их не выявляли [23].

Во многих исследованиях последних лет показано, что стволовые прекурсоры, выделенные из различных тканей взрослого организма (кожи, глаза, легкого, кордовой крови), способны экспрессировать как гемопотентные (CD34+, CD45+), так и нейрональные (CD133+, кислый глиальный протеин, бетатубулин) маркеры и трансформироваться в различные клетки — хондроциты, эндотелий, адипоциты, астроциты [9, 10, 12, 18]. Эмбриональные клетки печени трансформируются в клетки, содержащие маркеры нервных клеток и гематогенных клеток [13]. Нейрональный путь дифференцировки плюрипотентных стволовых CD34+ клеток происходит при культивировании их с астроцитомами [18] или добавлении специальных нейрональных факторов [10] и даже при введении их в мозг [12, 23]. В свою очередь, нейральные стволовые клетки эмбрионов и взрослых особей способны трансформироваться в плюрипотентные гемопоэтические клетки [8]. Следовательно, обнаружение в опухолях у детей клеток с маркерами плюрипотентных стволовых клеток (CD34+) не является неожиданным, локализацию этих клеток, их роль в онкогенезе еще предстоит изучить.

Следующим интересным фактом является установление различий в экспрессии продуктов гена p-53. Показано, что лишь в астроцитомах имеется наибольшее количество опухолевых клеток, экспрессирующих белок p-53, а в эпендимоме и медуллобластомах — их значительно меньше. Это позволяет предположить, что в медуллобластомах, возможно и эпендимоме, прогрессирование опухолевого процесса происходит по другим механизмам, с незначительными нарушениями или без нарушений в онкогенезе p-53, тогда как в астроцитомах практически в 33% клеток выявляют мутацию и гиперэкспрессию гена p-53, что свидетельствует об участии мутаций этого онкогена-супрессора в индукции и росте астроцитом.

Изучение фенотипической характеристики медуллобластом и астроцитом позволило

выявить, во-первых, различное количество в этих опухолях клеток, близких к стволовым, или их прогениторов, из которых могут образовываться опухоли, во-вторых, у этих опухолей по-разному экспрессирован ген p-53, а также представлены МКА, что, по-видимому, каким-то образом связано с развитием и характером роста, а также клиническими проявлениями.

Таким образом, медуллобластомы, астроцитомы и эпендимомы имеют различную фенотипическую характеристику как по экспрессии МКА, наличию в опухолях клеток с маркерами плюрипотентных стволовых клеток, так и по экспрессии гена p-53. Полученные данные представляют интерес для сопоставления с тяжестью клинического течения, характером роста и другими биологическими свойствами указанных опухолей.

Выводы

1. НМКА наиболее часто выявляют на клетках астроцитом, наименее — на клетках медуллобластом.

2. В астроцитомах и эпендимоммах больше, чем в медуллобластомах, содержится клеток, имеющих маркеры плюрипотентных стволовых клеток, так называемые CD34 положительные клетки.

3. Рецептор апоптоза Fas-рецептор экспрессирован примерно одинаково, на всех трех типах опухолей его выявляют на 18–25% клеток.

4. В клетках астроцитом в 2 раза больше, чем в клетках медуллобластом и эпендимом, выявляют повышение активности онкогена p-53.

5. Выявленные фенотипические особенности опухолей различного генеза дополняют представления о биологических свойствах этих опухолей.

Список литературы

- Барышников А.Ю., Шишкин Ю.В. Иммунологические проблемы апоптоза. — М.: Медицина, 2002. — 320 с.
- Березин В.А. Характеристика мембранных нейроспецифических белков // Нейрохимия. — 1984. — Т.3, №1. — С.57–70.
- Березин В.А. Молекулы клеточной адгезии нервной ткани // Успехи соврем. биологии. — 1986. — Т.101, №1. — С.54–68.
- Глузман Д.Ф. Классификация антигенов лейкоцитов человека (Система CD). — К., 2003. — 39 с.
- Зозуля Ю.А., Верхоглядова Т.П., Шамаев М.И., Малышева Т.А. Гистологические принципы классификации опухолей нервной системы и ее клиническое значение // Укр. нейрохирург. журн. — 2001. — №1. — С.32–41.
- Шепелева И.И., Чехонин В.П. Нейрональные молекулы клеточной адгезии // Журн. неврологии и психиатрии. — 1996. — №5. — С.113–118.
- Шубич М.Г., Авдеева М.Г., Вакуленко А.Д. Адгезивные межклеточные взаимодействия // Арх. патологии. — 1997. — №6. — С.3–9.
- Almedia Kozado G. Crapnell J. In vivo hematopoietic potential of human neural stem cells // Br. J. Haemathol. — 2005. — V.130. — P.276–283.
- Bellichi M., Pisati F., Lopa K. et al. Human skin-derived stem cells migrate throughout forebrain and differentiate into astrocytes after injection into adult mouse brain // J. Neurosci. Res. — 2004. — V.77. — P.475–486.
- Buranski I., Surge M., Stachowiak E. et al. Neural stem-like cell line derived from a nonhematopoietic population of human umbilical cord blood // Stem Cells Dev. — 2006. — V.15. — P.391–406.
- Edelman J.M. Expression of cell adhesion molecules during embryogenesis and regeneration // Exp. Cell Res. — 1984. — V.161, N1. — P.1–16.
- Goelsby J. Hematopoietic progenitors express neural genes // Proc. Natl. Acad. Sci. — 2003. — V.100, N2. — P.926–931.
- Hao U., Zhoo J., Thomas R. et al. Lethal human hematopoietic stem cells can differentiate sequentially into neural stem cells and then astrocytes in vitro // J. Hematother. Stem Cell Res. — 2003. — V.12. — P.23–32.
- Huang C.X., Hu S.K., Chen B. Expression of the neural cell adhesion molecule in human astrocytomas // Human Like De Xue Bao. — 2001. — N6. — P.523–545.
- Huhn J., Jung J., Cheshier S. et al. Identification of phenotypic neural stem cells in a pediatric astroblastoma // J. Neurosurg. — 2005. — V.103. — P.446–450.
- Lin J., Finger E., Gutierrez-Kamos J. et al. Expression of CD-34 in endothelial cells, hematopoietic progenitors and nervous cells in fetal and adult mouse tissues // Eur. J. Immunol. — 1995. — V.25. — P.1508–1516.
- Parker H., Pilkington G.J. Morphological immunocytochemical and flow cytometric in vitro, characterization of a surface adherent medulloblastoma // Canc. Res. — 2005. — V.6. — P.3833–3863.
- Reali C., Cintu F., Pillai K. et al. Differentiation of human adult CD-34+ stem cells into cells with a neural phenotype: role of astrocytes // Exp. Neurol. — 2006. — V.197. — P.399–406.
- Suzuki M., Nakoyama J. Polysialic acid facilitates tumor invasion by glioma cell // Glicobiology. — 2005. — V.9. — P.887–894.
- Tan L., Tang T., Zhang O. Characterization and neural differentiation of fetal lung mesenchymal stem cells // Cell Transpl. — 2005. — V.14, N5. — P.311–321.
- Tews D. Adhesive and invasive features in gliomas // Pathol. Res. Pract. — 2000. — V.196, N10. — P.701–711.
- Tews D., Nessen A. Expression of adhesion factors and desrading proteins in primary and secondary glioblastomas and their precursor tumors // Invas. Metastas. — 1998–1999. — N5–6. — P.271–284.
- Udanui V.M., Santarelli I., Yung Y.C. et al. Hematopoietic stem cells give rise to perivascular

- endothelial-like cells during brain tumor angiogenesis // *Stem. Cell Dev.* — 2005. — V.14. — P.478–486.
24. Yushida S., Shimmura S. Isolation of multipotent neural crest-derived stem cell from the adult mouse cornea // *Stem Cell.* — 2006. — V.3. — P.206–213.
25. Zin W., Xu X., Yang T. Hua F. P-53 mutation, EGFR gene amplification and loss of heterozygosity on chromosome 10,17 p in human glioma // *Clin. Med. J.* — 2000. — V.113, N7. — P.662–666.

Фенотипова характеристика клітин внутрішньомозкових пухлин у дітей

Лисяний М.І., Орлов Ю.О., Потапова А.Г., Лисяний О.М., Шаверський О.В., Примушко Л.І.

На підставі вивчення експресії нейрональних молекул клітинної адгезії (НМКА) на клітинах внутрішньомозкових пухлин у дітей встановлено, що НМКА значно частіше виявляють на астроцитомах, ніж на медуллобластомах.

Рецептори апоптозу (Fas-рецептор) та активаційні рецептори (CD38, CD25) представлені рівною мірою як на астроцитомах, так і медуллобластомах. Різний ступінь експресії НМКА на клітинах пухлин може бути зумовлений різною здатністю до метастазування та інфільтративного росту: чим менше НМКА на клітинах, тим вища здатність пухлини до метастазування.

Phenotypical marker cells of intracranial tumor in children

Lisyany N.I., Orlov Yu.A., Potapova A.I., Lisyany A.N., Shaversky A.V., Primushko L.I.

The neural cell adhesive molecules (NCAM) expression on membrane of astrocytoma and medulloblastoma cells in children were studied. It was found, that NCAM were expressed more often on cells of astrocytomas, than medulloblastomas. Surface-active receptors (CD38 and CD25) were expressed on 12–14% cells of medulloblastomas and astrocytomas, but p-53 proteins was determined more often on astrocytomas, than medulloblastomas.

Комментарий

к статье Лисяного Н.И. и соавторов “Фенотипическая характеристика клеток внутримозговых опухолей у детей”

Статья посвящена важному вопросу экспрессии функционально важных структур на поверхности внутримозговых опухолей. В работе использованы современные методы исследования, а именно моноклональные антитела к молекулам адгезии, рецепторам факторов роста и дифференцировки. Особенностью работы является то, что исследования проведены на клетках опухолей, полученных во время операции через 30–45 мин после их удаления, тогда как в литературе чаще используют перевиваемые опухолевые клетки определенных линий, которые имеют уже измененную структуру мембран клеток.

Изучение экспрессии различных рецепторов, молекул адгезии позволит уточнить многие вопросы онкогенеза, такие как скорость и направленность роста опухоли, способность к метастазированию, чувствительность к химио- и лучевой терапии, а также, вероятно, прогнозировать подходы к оперативному вмешательству, длительность ремиссии, сроки выполнения повторных операций. Авторы объектом исследования избрали внутримозговые опухоли у детей, среди которых преобладают медуллобластомы и астроцитомы. Изучение этих опухолей в сравнительном плане очень интересно и важно, так как их происхождение, чувствительность к различным видам терапии, способность к продолжительному росту и метастазированию различны.

Авторы исследовали экспрессию молекулы клеточной адгезии, а именно астроцитарную молекулу адгезии, NCAM, активационную молекулу CD38, CD25, рецептор апоптоза Fas-рецептор, CD95, а также экспрессию на клетках опухолей CD34, маркера стволовых митогенных клеток, которая указывает на наличие в опухоли полипотентных стволовых клеток.

Установлено, что на клетках астроцитом практически в 1,5–2 раза больше экспрессируется NCAM. В то же время Fas-рецептор апоптоза экспрессирован примерно одинаково на всех типах опухолей. Полученные данные авторы связывают с особенностями биологии этих опухолей и их чувствительностью к действию химиотерапии и лучевому лечению.

Целесообразно эти исследования продолжить и исследовать изменения фенотипической характеристики мембран опухолей в зависимости от степени анаплазии опухоли и возрастных особенностей больного.

*А.Я.Главацкий, доктор мед. наук,
ведущий научный сотрудник*

Института нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова АМН Украины