

УДК 616.-836-006:612.124.017./:615.37(048.8)

Дослідження чутливості клітин пухлин головного мозку різного походження до дії апоптозіндукуючих чинників

Лісяний М.І., Захаревич О.М., Лісяний О.М.

Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова АМН України, м. Київ, Україна

Досліджений стан апоптозу і життєздатності первинних пухлин різного походження, отриманих після хірургічного втручання. Найбільший апоптотичний індекс відзначений у менингіоми, найменший — у медулобластоми. Встановлена різна чутливість пухлин до цитотоксичної дії лімфоцитів, що свідчить про різну експресію Fas-рецепторів на клітинах цих пухлин. Найбільш резистентними є клітини гліобластоми і медулобластоми.

Ключові слова: апоптоз, пухлини головного мозку різного походження, клітини-мішені, клітини-ефектори, МТТ-колориметричний метод, цитотоксична дія, метод флуоресцентної мікроскопії, життєздатність клітин пухлин головного мозку.

Термін “апоптоз” має давньогрецькі витоки, він зустрічається ще в медичних трактатах часів античної Греції та Стародавнього Риму. [12, 15]. За сучасними уявленнями, апоптоз — це фізіологічна форма загибелі клітини, яка виникає в нормальних чи патологічно-змінених тканинах еукаріотів у вигляді конденсації та фрагментації хроматину, ущільнення ядерної та цитоплазматичної мембран без виходу вмісту клітини в навколишнє середовище [14]. Проте, багато ще в регуляції апоптозу та шляхах його реалізації невідоме [2]. Механізми індукції апоптозу, які зумовлюють його надмірне активування або інгібування, можуть бути важливим чинником у розкритті патогенезу різних патологічних станів (онкологічні захворювання, атеросклероз, нейродегенеративні захворювання ЦНС та ін.) [3–5].

Зменшення здатності до апоптозу клітин пухлини відіграє суттєву роль в утворенні багатьох пухлин, проте, це відбувається за допомогою різних механізмів, аналіз яких може бути корисним для оцінки існуючих і пошуку нових шляхів пригнічення росту пухлин [7]. Найбільш вивченим механізмом пригнічення апоптозу, який лежить в основі наробки пухлинного клону, є ауто- та паракринне підвищення експресії ростових факторів і рецепторів до них, які виникають в клітинах пухлин завдяки активації онкогенів. Іншим механізмом зламки апоптозу в клітинах пухлин є мутація в генах, які контролюють суїцидальну програму. В ряду цих процесів добре вивчена оверекспресія гена BCL-2, який гальмує апоптоз, що лежить в основі загибелі багатьох пухлин [2]. Важлива роль в регуляції апоптозу належить системі Fas (Apo-1, CD-95). CD-95 — це трансмембранний білок-рецептор, який при зв'язуванні з специфічним лігандом або антитілами передає сигнал до апоптозу. Антиген CD-95, експресований в тканинах, може бути присутнім постійно або з'являтися після активації клітин. Ще одним механізмом апоптозу є регуляція на рівні мітохондрій, які виділяють цитохром С і фактор, що

індукує апоптоз, а ті, в свою чергу, активують DEVD-специфічні каспази [11].

На клітинах пухлин мозку також присутній Fas-рецептор і Fas-ліганд. Клітини медулобластоми коекспресують CD-95 та CD-95L. За наявності вузлувато-десмопластичної медулобластоми міжвузлові регіони пухлини характеризувались високою експресією p53 та BCL-2, а всередині вузла експресія їх була низькою. Клітини менингіоми експресують низькі рівні Fas-ліганду. Клітини злоякісної гліоми людини також експресують CD-95 ліганд. Крім того, ще одним фактором, який дозволяє гліомам уникати імунної відповіді, є CD-70 — клітинний ліганд [19].

При астроцитарних пухлинах спостерігають високий рівень експресії Fas-L та каспази-1, а також збільшення вмісту апоптотичних клітин, що позитивно корелює з ступенем диференціювання пухлин у хворих, тривалість життя яких була більшою [1, 15].

В гліобластомах існує певна залежність між вираженістю апоптозу та експресією онкопротеїну p53. Оскільки показники апоптозу найбільш високі та стабільні в гліобластомах (від 11 до 35%), можна припустити, що в цих пухлинах менше порушень в супресорній частині p53, а, отже, процес “запрограмованої смерті” клітин більш виражений [6].

В цілому, пухлини мозку різною мірою чутливі до цитотоксичної дії лімфоцитів, яка може бути реалізована через систему Fas-рецептора, що експресується на клітинах пухлин [1, 6, 16].

Зважаючи на різну здатність до апоптозу клітин пухлин головного мозку і неоднакову експресію на них Fas-рецепторів, важливим є порівняння життєздатності й інтенсивності апоптозу в них, а також визначення чутливості їх до цитотоксичної дії лімфоцитів в умовах культивування *in vitro*.

Матеріали і методи дослідження. Об'єктом дослідження були свіжовиділені клітини пухлин різного походження, отримані під час оперативного втручання у 33 хворих. В усіх діагноз верифікований за даними гістологічного

дослідження (у 10 — виявлено медулобластоми, у 9 — анапластичну астроцитому III ступеня злоякісності та гліобластоми, у 4 — фібрилярно-протоплазматичну астроцитому II ступеня злоякісності, у 10 — менінгіому). Досліджували також лімфоцити крові у пацієнтів з пухлинними хворобами. Лімфоцити виділяли з гепаринізованої венозної крові в градієнті щільності фіколл-гіпаку (d-1,077), відмивали тричі в стерильному ізотонічному фосфатному буферному розчині, ресуспендували в середовищі №199 з додаванням 10% ембріональної сироватки теляти та гентаміцину. Як клітини-мішені використовували свіжовиділені клітини пухлин різного походження.

Клітини пухлин, отриманих у строки 2–3 год після їх видалення, виділяли шляхом старанного механічного розбивання шматочка тканини з використанням ножиць та голки різного діаметра. Клітини двічі відмивали в забуференому розчині шляхом центрифугування при швидкості 1000 об./хв, фільтрували через нейлоновий фільтр, визначали їх життєздатність за включенням 0,1% трипанового синього [8, 10, 17].

Поряд з цим визначали апоптотичну готовність зазначених пухлин методом флуоресцентної мікроскопії. З цією метою клітини фарбували барвником Hoechst 33342 (Sigma, США). Це ДНК-тропний барвник, що з'єднується з ДНК у місцях А–G пар і виявляє апоптотичні властивості клітини вже через 6–8 год після отримання апоптотичного стимула. Для фарбування клітини відмивали в забуференому фізіологічному розчині (ЗФР) шляхом центрифугування при швидкості 1500 об./хв протягом 5 хв, інкубували в розчині Hoechst 33342 (0,1 мкг/мл) протягом 30 хв при температурі 37°C. Відмиті в ЗФР клітини суспендували в 50% розчині гліцерину і наносили на предметні скельця. Препарати накривали покривними скельцями і запаювали. Аналіз препаратів здійснювали за допомогою флуоресцентного мікроскопа при збільшенні 900. Підрахунки проводили на 100 клітин за загальноприйнятою методикою [3, 10, 17].

Цитотоксичну реакцію проводили МТТ-колориметричним методом [9, 13, 18]: в 96-лунковий плоскодонний планшет ("Flow Laboratories") вміщували по 0,1 мл суспензії лімфоцитів в концентрації від $1 \cdot 10^6$ до $3 \cdot 10^6$ в 1 мл, і по 0,1 мл клітин-мішеней в концентрації $25 \cdot 10^3$ в 1 мл в повному культуральному середовищі. Для контролю в частину лунок вміщували (по 0,1 мл) тільки ефектори або тільки мішені в усіх досліджуваних концентраціях і додавали

по 0,1 мл культурального середовища. Варіанти культур тестували в триплетах. Клітини-мішені використовували в кількості $25 \cdot 10^3$, $50 \cdot 10^3$, $100 \cdot 10^3$ в лунці, клітини-ефектори — від $1 \cdot 10^6$ до $5 \cdot 10^6$ в лунці. Співвідношення ефектор/мішень становило 1:5, 1:10, 1:20.

Цитотоксичний тест проводили протягом 20 год в умовах термостата, потім в усі лунки додавали по 20 мкл робочого розчину МТТ ("Fluka") в концентрації 0,5 мг/мл. Планшету продовжували інкубувати при зазначених умовах протягом 3 год, далі центрифугували при швидкості 1500 об./хв протягом 5 хв, після чого на дні лунок візуалізувались фіолетові кристали формагану. Видаляли супернатант і додавали в кожен лунку по 150 мкл розчинника кристалів формагану ДМСО (диметилсульфоксид). Оптичну щільність (ОЩ) вмісту лунок, забарвленого від світло-фіолетового (за максимального лізису) до яскраво-фіолетового (за мінімального лізису) визначали за допомогою спектрофотометра при довжині хвилі 492 нм.

Цитотоксичність оцінювали за величиною цитотоксичного індексу (ЦІ):

$$ЦІ = 100 - \frac{ОЩ_{e+m} - ОЩ_e}{ОЩ_m} \times 100$$

де, $ОЩ_{e+m}$ — значення ОЩ в лунках, де містилися ефектори + мішені; $ОЩ_e$ — значення ОЩ в лунках, де містилися тільки клітини-ефектори; $ОЩ_m$ — значення ОЩ в лунках, де знаходились тільки клітини-мішені [6, 13].

Статистична обробка отриманих даних проведена з використанням стандартного комп'ютерного пакета "Аналіз даних" Microsoft Excel для Windows 1995, версія 7.0a, 1996 р.

Результати та їх обговорення. Матеріал пухлин для дослідження одразу переводили на поживне середовище і далі використовували в роботі. При визначенні за допомогою трипанового синього життєздатності отриманої суспензії клітин встановлено, що вона залежить від структури пухлини: клітини менінгіоми були найменш життєздатні (табл. 1), клітини гліальних пухлин добре переносять гіпоксію та механічну дезагрегацію, життєдіяльність клітин астроцитоми I–II стадії анаплазії становила у середньому ($75 \pm 1,1$)%, атипової астроцитоми — ($76 \pm 4,5$)%. Найбільш високою була життєздатність медулобластоми — ($82 \pm 2,9$)%. Таким чином, протягом 3 год, після видалення пухлин зберігається їх висока життєздатність, що дає змогу використовувати їх в подальших дослідженнях. Крім того, найбільш інтенсивна

Таблиця 1. Стан життєздатності і вміст апоптотичних клітин пухлин різного походження

Пухлина	Кількість клітин в стані апоптотичної готовності, %	Життєздатність клітин, %
Медулобластома (n=10)	$25 \pm 2,8^*$	$82 \pm 2,9^*$
Менінгіома (n=10)	$43 \pm 2,5$	$66 \pm 2,3$
Анапластична астроцитому III ступеня та гліобластома (n=9)	$38,7 \pm 4,3$	$76 \pm 4,5$
Астроцитому (n=4)	$34,2 \pm 2,7$	$75 \pm 1,1$

Примітка. * — різниця показників вірогідна у порівнянні з такими при інших пухлинах ($P < 0,05$).

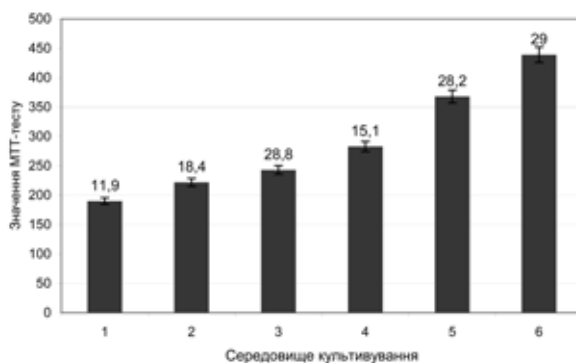
загибель клітин, які перебували поза організмом, притаманна менінгіомам, що, можливо, пов'язане з чутливістю їх до гіпоксії та порушенням мікроциркуляції а також дією механічних факторів при їх подрібнюванні. Також слід відзначити, що життєздатність клітин гліальних пухлин практично не залежить від ступеня їх анаплазії.

За даними дослідження апоптозу з використанням ДНК-тропного барвника встановлено, що в менінгіомі було найбільше клітин, які перебували у стані апоптозу — $(43 \pm 2,5)\%$, в медулобластомі — лише $(25 \pm 2,8)\%$, що практично вдвічі менше. В клітинах гліом інтенсивність апоптозу була майже однаковою: при злоякісних — $(38,7 \pm 4,3)\%$, при доброякісних — $(34,2 \pm 2,7)\%$, що виявилось несподіваним, оскільки вважають, що для злоякісних пухлин характерна менша інтенсивність апоптозу.

Отже, проведені дослідження свідчать, що пухлини мозку різного походження після їх видалення мають в своєму складі різну кількість клітин, які перебувають у стані апоптозу. Найбільш виражений апоптоз притаманний менінгіомам, понад 40% клітин перебувають у цьому стані, найменша кількість апоптотичних клітин виявлена в медулобластомах — тільки 25%. Таким чином, різна чутливість до гіпоксії та різна інтенсивність апоптозу в клітинах пухлин мозку можуть свідчити про глибинне порушення в генетичному апараті і механізмах реалізації апоптотичних сигналів до клітин.

Найбільш чутливі до апоптозу та найменше порушень в його механізмах спостерігають в менінгіомах, і навпаки, в медулобластомах він найменш виражений.

Зважаючи на різну життєздатність свіжовиділених клітин, важливо вивчити їх здатність до виживання й адаптації до умов культивування *in vitro*, про що свідчить метаболічна активність ферментів, які виявляють за допомогою МТТ-тесту. Для цього клітини в концентрації $25 \cdot 10^3$, $50 \cdot 10^3$, $100 \cdot 10^3$ культивували протягом 10–15 хв, 3 год та 24 год в повноцінному живильному середовищі №199 + 10% фетальної сироватки з подальшим визначенням метаболічної активності в МТТ-тесті. Клітини пухлин вже протягом 3 год збільшують свою метаболічну активність на 20–25%, а при культивуванні протягом 24 год в термостаті — майже вдвічі (табл. 2). У міру збільшення концентрації клітин в пробі збільшується сумарна МТТ-активність, що свідчить про пропорціональну залежність показників МТТ-реакції від кількості клітин. Встановлена залежність



Інтенсивність МТТ-реакції в клітинах пухлин залежно від поживного середовища. 1, 2, 3 — середовище Хенкса (концентрація клітин від $25 \cdot 10^3$ до $100 \cdot 10^3$); 4, 5, 6 — середовище №199+10% фетальна сироватка (концентрація клітин від $25 \cdot 10^3$ до $100 \cdot 10^3$)

інтенсивності МТТ-реакції від виду поживного середовища. Так, (див. рисунок), клітини пухлин можуть жити і зберігати свою метаболічну активність не тільки в повноцінному поживному середовищі, а й в збалансованому сольовому розчині Хенкса, проте, метаболічна активність їх при цьому майже в 1,5 разу нижча.

При оцінці життєздатності клітин в трипановому синьому встановлене незначне збільшення кількості мертвих клітин (у середньому на 1–5%), що в межах похибки методу. Таким чином, ці дані свідчать, що клітини пухлин, отримані під час операції, протягом 24 год зберігають життєздатність і можуть бути використані в цитотоксичному тесті з лімфоцитами, де необхідна інкубація протягом 24 год при температурі 37°C . Дослідження чутливості клітин пухлин різного генезу до цитотоксичного впливу лімфоцитів крові проводили у співвідношенні мішень/ефектор — 1:5 та 1:20. Найбільш резистентні до цитотоксичної дії лімфоцитів клітини медулобластоми, в яких ЦІ становить від 30–35% (табл. 3). Середню чутливість до цитотоксичної дії лімфоцитів мали менінгіоми, у яких ЦІ становив 49–54,4%. Гліальні пухлини виявляли різну чутливість до цитотоксичної дії лімфоцитів, зокрема, астроцитоми I–II ступеня анаплазії були високо чутливими (ЦІ 78–88%) залежно від співвідношення мішень/ефектор; астроцитоми III ступеня анаплазії і гліобластоми — менш чутливими (48–63%) залежно від співвідношення клітин.

Отримані результати свідчать, що більш злоякісні пухлини головного мозку — астроцитоми III ступеня анаплазії і гліобластоми — менш

Таблиця 2. Показники МТТ-тесту залежно від тривалості культивування клітин в суспензії

Показник	Величина показника при тривалості культивування клітин (M \pm m)								
	10–15 хв			2 год			24 год		
Кількість клітин (n=4)	25·10 ³	50·10 ³	100·10 ³	25·10 ³	50·10 ³	100·10 ³	25·10 ³	50·10 ³	100·10 ³
Результат МТТ-тесту, ОЩ	150,7 \pm 14,6	218,7 \pm 15,1	338 \pm 12,4	206 \pm 11,9	276 \pm 10,4	349 \pm 25,3	301* \pm 76	367* \pm 20,5	445* \pm 31,1

Примітка. * — різниця показників вірогідна у порівнянні з такими за тривалості культивування клітин протягом 10–15 хв (P<0,05)

Таблиця 3. Величина ЦІ при впливі лімфоцитів на клітини різних пухлин

Пухлина	Співвідношення М/Е (М±m)	
	1:5	1:10
Медулобластома (n=10)	30,1±14,3	35,1±15,8
Менінгіома (n=10)	49,2±9,7	54,4±7,7
Анапластична астроцитоза III ступеня та гліобластоми (n=9)	48,5±8,3	63,2±7,1
Астроцитоза (n=4)	78,2±5,2*	88,2±2,7*

Примітка. * — різниця показників вірогідна у порівнянні з такими при інших пухлинах (P<0,05).

чутливі до цитотоксичного впливу лімфоцитів, ніж астроцитоми I–II ступеня злоякісності. Найменш чутливими є медулобластоми, вони у 2,5 разу менш чутливі, ніж астроцитоми. Дослідження цитотоксичної активності лімфоцитів в різних співвідношеннях з клітинами-мішенями (1:5 та 1:10), підтверджує класичне положення, що з збільшенням дози лімфоцитів ЦІ зростає, це показано як для гліальних пухлин, так і стандартних ліній клітин K-562 [8].

Співставляючи результати визначення життєздатності, інтенсивності апоптозу та чутливості клітин до цитотоксичного впливу лімфоцитів, ми дійшли висновку, що неможливо встановити єдину залежність, а можливо лише виділити взаємний зв'язок між окремими гістологічними типами. Так, медулобластома характеризується високою життєздатністю, низькою інтенсивністю апоптозу свіжовиділених клітин і низькою чутливістю до цитотоксичного впливу лімфоцитів, тоді, як внутрішньомозковим пухлинам другого типу — гліальним — притаманна інша закономірність: вони також мають високу життєздатність, проте, майже третина з них перебуває у стані апоптотичної загибелі після видалення, при цьому астроцитоми більш чутливі до дії лімфоцитів (ЦІ близько 80%), ніж гліобластоми (ЦІ 48–60%).

Позамозкові пухлини (менінгіоми) високо чутливі до цитотоксичної дії лімфоцитів, характеризуються високою інтенсивністю апоптозу і найбільш низькою життєздатністю.

В пухлинах цих трьох видів виявляють різні за природою генно-молекулярні розлади, які визначають їх індивідуальні особливості, що виявляють за даними клінічних та гістологічних досліджень, та тривалість захворювання. Відсутність загальних ознак в пухлинах цих трьох видів зумовлює їх різну чутливість до лікування. Наприклад, променеве лікування та хіміотерапія здатні індукувати апоптоз, більш показані при менінгіомі, менше — при медулобластомі. Імунотерапія може бути більш ефективною при гліальних пухлинах, особливо астроцитомах, і мало ефективна — при медулобластомі, в якій клітини мало чутливі до цитотоксичної дії лімфоцитів вже спочатку. Різна інтенсивність апоптотичної загибелі клітин може бути пов'язана з їх проліферативним потенціалом, ступенем генних порушень

в клітині, що необхідно мати на увазі під час аналізу отриманих результатів.

Різна чутливість до цитотоксичної дії лімфоцитів може бути пов'язана з різною експресією клітинами пухлин Fas-рецептору, а також антигенів HLA I класу, за допомогою яких натуральні кілери і цитотоксичні лімфоцити CD8+ здійснюють цитотоксичну дію. За якого саме механізму лімфоцити здійснюють цей вплив — це завдання подальших досліджень з метою визначення, чи можливо підвищити чутливість пухлин до дії лімфоцитів. Можна лише припустити, що на мембранах клітин медулобластоми менше, ніж астроцитоми, в силу їх генезу, експресовані антигени HLA I класу, а отже, вони менш чутливі до дії, наприклад, CD8-лімфоцитів, що розпізнають антигени HLA I типу.

Висновки. 1. Життєздатність суспензії клітин *in vitro*, отриманих з пухлин головного мозку, становить 60–80% залежно від походження. Найбільш життєздатна медулобластома, найменш — менінгіома.

2. Під час фарбування суспензії клітин пухлини барвником, що виявляє апоптоз, встановлено, що гліома і менінгіома містять більше клітин, що перебувають у стані апоптотичної загибелі, ніж медулобластома.

3. Пухлини головного мозку різного походження мають різну чутливість до цитотоксичної дії лімфоцитів. Найбільш чутливі астроцитоза I–II ступеня анаплазії, найменш — медулобластома, що, можливо, пов'язане з особливостями експресії HLA I та Fas-антигенів на поверхні цих клітин.

Список літератури

1. Абраменко І.В., Фильченков А.А. Оценка параметров апоптоза в диагностике онкологических заболеваний, их прогноза и оптимизации схем терапии // Вопр. онкологии. — 2003. — №1. — С.21–29.
2. Владимирская Е.Б., Масчан А.А., Румянцев А.Г. Апоптоз и его роль в развитии опухолевого роста // Гематология и трансфузиология. — 1997. — №5. — С.4–8.
3. Залесский В.Н. Великая Н.В. Механизмы апоптоза при заболеваниях печени // Соврем. пробл. токсикологии. — 2002. — №4. — С.27–32.
4. Залесский В.Н., Гавриленко Т.И. Апоптоз при ишемии и реперфузии миокарда // Врачеб. дело. — 2002. — №1. — С.8–15.
5. Залесский В.Н. Фильченков А.А. Дынник О.Б. Методы визуализации апоптоза // Иммунология. — 2004. — №2. — С.326–338.
6. Коршунов А.Г., Сычева Р.В., Голанов А.В. Иммуногистохимическое изучение апоптоза в гліобластомах больших полушарий головного мозга // Арх. патологии. — 1998. — №3. — С.23–26.
7. Лихтенштейн А.В., Шапот В.С. Опухолевый рост: ткани, клетки; молекулы // Патол. физиология. — 1998. — №3. — С.25–44.
8. Маркова О.В. Чувствительность клеток гліальных опухолей разной степени анаплазии к НК-опосредованному лизису в зависимости от некоторых особенностей гликопротеидной структуры

- мембран // Нейрохірургія. — 1998. — Вып.25. — С.94–97.
9. Павлова К.С., Шпакова А.П., Дронова В.М. и др. Иммуномодулирующее действие естественного комплекса цитокинов на пролиферацию лимфоцитов и активность естественных киллеров человека *in vitro* // Иммунология. — 2000. — №2. — С.32–35.
 10. Рябенко В.В. Роль пептидного комплексу тимуса та нирок в регуляції процесів апоптозу тимоцитів за фізіологічних умов та модуляції активності їх внутрішньоклітинних регуляторних систем: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — К., 2004. — 26 с.
 11. Сидоренко С.П. Fas/CD95-опосредуемый апоптоз в патогенезе лимфоидных новообразований // Эксперим. онкология. — 1998. — №2. — С.15–28.
 12. Фильченков А.А. Современные представления о роли апоптоза в опухолевом росте и его значении для противоопухолевой терапии // Эксперим. онкология. — 1998. — №2. — С.259–270.
 13. Шпакова А.П. Павлова К.С. Буличева Т. И. МТТ-колориметрический метод определения цитотоксической активности естественных киллерных клеток // Клини. лаб. диагностика. — 2000. — №2. — С.20–23.
 14. Ярилин А.А. Апоптоз, природа феномена и его роль в целостном организме // Иммунология. — 1998. — №4. — С.38–48.
 15. Degli Esposti M. Apoptosis: Who was first // Cell Death Different. — 1998. — V.5 — P.719.
 16. Ehrmann J.Jr., Rihakova P., Hlobilkova A. et al. The expression of apoptosis-related proteins and the apoptosis rate in glial tumors of the brain // Neoplasma. — 2000. — V.47. — P.151–155.
 17. Maciorowski J., Delie V., Padoy E. et al. Comparative analysis of apoptosis measured by Hoechst and flow cytometry in non Hodgkin's lymphomas // Cytometry. — 1998. — V.32, N6. — P.44–50.
 18. Mosman T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays // J. Immunol. Methab. — 1983. — V.65. — P.48.
 19. Wischhusen J., Jung T., Radovanovic I. et al. Identification of CD70-mediated apoptosis of immune effector cells as a novel immune escape pathway of human glioblastoma // Cancer Res. — 2002. — V.62, N9. — P.2592–2599.

**Исследование чувствительности
клеток опухолей головного мозга
различного происхождения к действию
апоптозіндуцирующих факторов**

Лісяний Н.І., Захаревич О.М., Лісяний О.Н.

Исследовано состояние апоптоза и жизнеспособности первичных опухолей различного происхождения, взятых во время хирургического вмешательства. Наибольший апоптотический индекс установлен у менингиомы, наименьший — у медуллобластомы. Установлена различная чувствительность опухолей к цитотоксическому действию лимфоцитов, что свидетельствует о различной экспрессии Fas-рецепторов на клетках этих опухолей. Наиболее резистентными оказались клетки глиобластомы и медуллобластомы.

**Researches of different histogenesis
brain tumours cells sensibility to the
apoptosinducing factors effect**

Lysiany M.I., Zacharewicz O.M., Lysiany O.M.

The state of apoptosis and vitality of various genesis primary tumours, received after surgical intervention, are investigated. Largest apoptosis index was found at meningioma, and the smallest — at medulloblastoma. Different tumours sensibility to the lymphocytes cytotoxic effect was fixed, that shows different expression of Fas-receptors on these tumours cells. Refractory appeared in cells of glioblastomas and medulloblastomas.

Коментар

до статті Лісяного М.І., Захаревича О.М., Лісяного О.М. “Дослідження чутливості клітин пухлин головного мозку різного походження до дії апоптозіндукуючих чинників”

В статті висвітлена важлива проблема нейроонкології — чутливість клітин пухлин різного генезу до дії апоптозіндукуючих чинників.

Проведене порівняльне вивчення життєздатності клітин пухлин з використанням таких методів, як включення трипанового синього, фарбування ДНК барвником Hoechst 33342 та за допомогою МТТ-реактиву, яким оцінюють метаболічну активність мітохондрій. Показано, що клітини менингиоми найбільш чутливі до умов виживання, медуллобластоми і гліоми — зберігають високу життєздатність лише протягом 3 год після видалення пухлини та при культивуванні у вигляді суспензії протягом 24 год.

Авторами встановлено, що медуллобластома і злоякісна гліома малочутливі до цитотоксичної дії лімфоцитів, астроцитома I–II ступеня анаплазії та менингиома — високочутливі до них, що пов'язане з різною експресією на клітинах цих пухлин індукуючих Fas-рецепторів. Це положення важливе з практичної точки зору як для визначення чутливості цих пухлин до реакцій протипухлинного імунітету, так і до проведення променевої та хіміотерапії. Розроблені авторами методики оцінки стану апоптозу у свіжовиділених клітинах пухлин головного мозку можуть бути використані під час індивідуального планування схем хіміо- та імунотерапії.

*В.М. Семенова, доктор мед. наук
зав. лабораторією культивування тканин
Інституту нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова АМН України*