

УДК 612.017.616.831

Особенности иммунологических нарушений при глиомах головного мозга в период ремиссии

Лисяньий Н.И., Гнедкова И.А., Бычкова С.А., Розуменко В.Д.,
Главацкий А.Я., Малышева Т.А.

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

С помощью клинико-иммунологических исследований изучены особенности распределения гликопротеидных рецепторов к лектинам на периферических мононуклеарах и аутологичных клетках глиом, а также дифференцировочных антигенов CD на периферических лимфоцитах, что дало возможность выделить два основных звена в патогенезе глиом, а именно: нарушение в рецепторных механизмах иммунного ответа и развитие иммунозависимого роста злокачественных глиом.

Ключевые слова: *глиома, продолженный рост глиомы, ремиссия, углеводные рецепторы к лектинам, дифференцировочные антигены CD, лимфоциты*

Вступление. Лечение внутримозговых глиом остается актуальной проблемой нейрохирургии. Очень важными и малоизученными являются вопросы иммунологических механизмов развития глиом головного мозга. Для разработки новых подходов к генно-молекулярной, генно-клеточной терапии необходимо иметь адекватные представления о молекулярных механизмах взаимодействия рецепторов на иммунокомпетентных и опухолевых клетках, вариантах трансдукции активационного внутриклеточного сигнала в нормальных клетках и изменении путей его трансдукции при глиомах различной степени анаплазии [6, 13]. В этой связи важно было изучить рецепторы, содержащие гликоконъюгаты (гликопротеиды, гликолипиды) с терминальными молекулами простых сахаров, которые могут осуществлять начальные этапы проведения активационного или проапоптотического сигнала. Наиболее адекватной оценкой значения клинико-иммунологического признака глиомы является его сопоставление с длительностью послеоперационной ремиссии. Прогноз клинического течения внутримозговых глиом прежде всего необходим для детального и углубленного изучения патогенетических механизмов развития опухоли в организме, на основании которых можно предлагать новые подходы или направления для поиска адекватных методов лечения злокачественных глиом [2, 8].

При росте, дифференцировке и малигнизации клеток различного происхождения меняется структура мембранных гликопротеинов. Нарушения в структуре гликоконъюгатов клеточных мембран при онкогенезе заключаются в изменённом синтезе, “неполном синтезе”, а также в нарушении этапов синтеза мембранных гликоконъюгатов [22]. Это приводит к нарушению эффекторной функции натуральных

киллеров (NK), естественных киллеров (ЕК), цитотоксических лимфоцитов (ЦТЛ). При опухолевом процессе отмечается увеличение экспрессии на мембранах злокачественных клеток различного происхождения рецепторов к лектинам сои (SBA+), арахиса (PNA+) и чечевицы (LCL), связывающих соответственно N-ацетилгалактозамин, (NAcGal), D-галактозу (D-Gal) D-маннозу (D-man.) [10, 14]. Нарушение гликозилирования мембранных рецепторов клетки отражается на составе и характере распределения рецепторов к лектинам. Использование лектинов обеспечивает получение информации об изменении состава и свойств гликоконъюгатов мембран клеток [14].

Нарушения структуры гликоконъюгатов мембран клеток обуславливают в свою очередь глубокие изменения внутриклеточной, межклеточной и системной регуляции, что, по-видимому, является звеном патогенеза развития опухолевой болезни и ухода “опухоли” от иммунобиологического надзора. Можно ожидать, что изменения в углеводных структурах клеточных мембран и биологически активных факторов определяют глубокие нарушения внутриклеточной и межклеточной кооперации, что формирует, по-видимому, самоподдерживающиеся патологические биохимические циклы, обеспечивающие приоритетное развитие и рост патологического клона клеток [29, 32]. Возможно, изменение структуры мембранных гликопротеидов иммунокомпетентных и опухолевых клеток является одним из механизмов индукции толерантности лимфоцитов к опухолевым антигенам.

Некоторыми исследователями [22] была прослежена связь между экспрессией углеводных антигенов на опухолевых клетках и выживаемостью больных раком легкого, кишеч-

ника, молочной железы. Отмечена достоверно большая пятилетняя выживаемость у больных раком легкого при экспрессии на опухолевых клетках антигенов A, Lex, Lea, в состав которых включены терминальные молекулы N-ацетилглюкозамина (NAcGlc) и нейраминной кислоты (NAcNeu) [22]. В предыдущих исследованиях было изучено распределение дифференцировочных антигенов системы CD на периферических лимфоцитах [12] и рецепторов к лектинам на периферических лимфоцитах и клетках глиом в зависимости от степени анаплазии опухоли мозга [8, 9]. Отмечено, что при развитии в организме злокачественной глиальной опухоли возникают разнонаправленные нарушения в клеточном звене иммунитета, проявляющиеся снижением количества различных активированных субпопуляций лимфоцитов, а также увеличением числа лимфоцитов, несущих проапоптотический FAS- рецептор [1, 12].

Согласно данным литературы [8, 9, 12, 22], определённое клиническое и патогенетическое значение имеют изменения показателей содержания периферических лимфоцитов с изменённым содержанием дифференцировочных антигенов (CD) и углеводных рецепторов к лектинам.

В связи с этим **целью** настоящей работы явилось изучение особенностей распределения рецепторов к лектинам на лимфоцитах периферической крови и параллельно на аутологических опухолевых клетках, а также содержания основных и активированных субпопуляций лимфоцитов у больных глиомами различной степени анаплазии в зависимости от длительности послеоперационной ремиссии, оцениваемой на основании клинических проявлений продолженного роста глиом, подтверждённых данными компьютерной томографии.

Материалы и методы исследования. Нами обследовано 65 больных с глиальными опухолями головного мозга: из них у 8 больных отмечали глиомы I степени анаплазии; у 14 — II степени; у 33 — III степени; у 10 — глиобластомы IV степени анаплазии. Больные были в возрасте от 20 до 45 лет. Всем больным опухоль удалили тотально или субтотально.

Контрольную группу составили 20 здоровых лиц, сопоставимых по возрасту и полу. Иммунологические исследования проводили в послеоперационный период на 7–10-й день после отмены кортикостероидной терапии. У всех больных изучали субпопуляционный состав лимфоцитов непрямым иммунофлюоресцентным методом [25] с исследованием основных CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺, CD16⁺ и активированных субпопуляций: CD25⁺, CD54⁺, CD95⁺, HLA-DR⁺. Углеводные рецепторы к лектинам изучали прямым имму-

нопероксидазным методом на периферических мононуклеарах и на препаратах клеток глиом, выделенных из биоптического материала, полученного во время оперативного вмешательства [14]. Контролем служили препараты мозга лиц, умерших от причины, не связанной с опухолевой патологией.

Послеоперационную ремиссию оценивали в срок от даты оперативного вмешательства до клинических проявлений продолженного роста глиомы, подтверждённых данными компьютерной томографии.

Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи стандартного компьютерного пакета «Анализ данных» Microsoft Excel для Windows 1995, версия 7.0a, 1996 г.

Результаты и их обсуждение. В результате проведенных исследований установили, что при наиболее коротком периоде клинической ремиссии (1,5 мес) у больных с анапластическими астроцитомами достоверно была снижена общая популяция T-лимфоцитов CD3⁺, а также популяция лимфоцитов хелперов-индукторов — CD4⁺ и цитотоксических супрессоров CD8⁺ (табл. 1).

У больных с глиобластомами при наиболее коротком (1,5 мес) периоде клинической ремиссии, отражающим быстрый рост глиомы, отмечали только тенденцию к снижению CD3⁺ T-лимфоцитов. Процентное содержание CD4⁺ и CD8⁺ лимфоцитов не отличалось от такового у доноров. Однако достоверно было снижено количество лимфоцитов-киллеров CD16⁺. Такой не однотипный ответ лимфоцитов у больных с глиомами различной степени анаплазии может отражать многообразие механизмов взаимодействия опухоли и иммунной системы у больных с глиомами различной степени анаплазии.

При ремиссии 3,5 мес в послеоперационный период наблюдали незначительное снижение содержания популяций основных иммунорегуляторных клеток CD3⁺ и CD4⁺ или его отсутствие, тогда как в данный клинический период установили достоверное увеличение содержания в периферической крови CD8⁺ лимфоцитов, за счёт чего резко изменилось значение иммунорегуляторного индекса (см. табл. 1). Количество клеток-киллеров у больных с глиомами III степени анаплазии было в 3 раза, а у больных с глиомами IV степени анаплазии в 2,5 раза ниже, чем у доноров (контроль).

При длительном (15 мес) периоде клинической ремиссии у больных с глиомами III степени анаплазии и у больных с глиомами IV степени анаплазии содержание общей субпопуляции T-лимфоцитов CD3⁺ не отличалось от такового в контроле. У больных с глиомами III степени

Таблица 1. Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови нейроонкологических больных в зависимости от длительности послеоперационной ремиссии (M±m)

Субпопуляционный состав лимфоцитов	Длительность ремиссии, мес						Контрольная группа
	1,5±0,2		3,5±0,5		15,1±1,5		
	Глиома III	Глиома IV	Глиома III	Глиома IV	Глиома III	Глиома IV	
CD3+	39,5±3,1	58,3±4,7	65,1±5,4	53,1±5,0	64,4±5,9	64,4±5,4	65,8±7,2
CD4+	26,6±2,9	36,9±4,0	27,3±2,8	26,5±2,7	44,5±4,6*	41,4±4,7	33,2±3,9
CD8+	12,2±4,4	25,5±2,47	32,5±3,4	34,7±3,5	15,7±1,6	22,0±2,4	21,5±2,0
CD4/CD8	2,18±0,3	1,42±0,1	0,93±0,08	0,81±0,08	2,68±0,3	1,88±0,19	1,8±0,19
CD19+	14,7±1,6	16,6±5,9	9,4±1,5	10,2±1,4	16,±1,7	15,6±1,63	7,8±0,9
CD16+	18,0±1,9	12,7±1,3	6,3±0,7	7,1±0,7	21,4±2,2	17,4±1,8*	18,9±2,3
CD25+	3,1±0,35	2,6±0,23	2,4±0,27	2,3±0,25	4,5±0,47*	6,8±0,63*	15,3±1,71
CD54+	11,3±1,2	4,1±0,4	9,4±0,9	7,8±0,8	13,9±0,4	6,2±0,7*	11,2±1,23
HLA-DR+	10,5±1,2	12,8±0,13	12,9±0,13	10,2±0,1	8,2±0,93	7,8±0,83*	17,1±1,9
CD95+	7,0±0,81	9,5±8,7	12,1±1,3	13,5±1,4	10,7±1,1	9,5±1,0	4,5±0,6

Примечание. * — достоверность различия показателя при коротком и длительном периоде клинической ремиссии (P<0,01).

анаплазии достоверно увеличивалось содержание CD4⁺ клеток по сравнению с показателями в контроле и отмечалась тенденция к увеличению содержания клеток-киллеров CD16⁺ (см. табл. 1).

У больных с глиобластомами длительная ремиссия сопровождалась нормализацией уровня CD16⁺ клеток, а также достоверным увеличением содержания CD4⁺ лимфоцитов (см. табл. 1).

Необходимо подчеркнуть, что при длительном (15,1 мес) периоде клинической ремиссии содержание Т-лимфоцитов-хелперов было достоверно увеличено у больных с глиомами независимо от степени анаплазии, поэтому увеличенное содержания CD4⁺ лимфоцитов можно использовать как прогностический показатель благоприятного клинического течения глиом. Эти данные согласуются с данными литературы [28] о ведущей роли CD4⁺ лимфоцитов в противоопухолевом иммунитете.

Этот факт ставит также ряд патогенетических задач. Известно, что Т-лимфоциты подразделяются на Т-хелперы-I (Тх-I) и Т-хелперы-II (Тх-II). В связи с этим возникает вопрос о том, какой тип ответа опосредуемый Тх-I (клеточный) или Тх-II (гуморальный) более эффективен в качестве активации противоопухолевого иммунитета. Необходимо отметить, что практически у всех больных глиомами было отмечено увеличенное содержание В-лимфоцитов (CD19⁺) независимо от длительности ремиссии.

Увеличение содержания CD19⁺ лимфоцитов, активируемых Тх-II, косвенно может отражать активацию субпопуляции Т-хелперов-II [17]. Однако активация гуморального иммунного ответа не сопровождалась увеличением периода

клинической ремиссии, тогда как при длительной ремиссии содержание CD4⁺ лимфоцитов увеличивалось.

Для уточнения механизмов передачи активационного или апоптотического сигнала на мембранах периферических лимфоцитов изучили активационные CD54 (ICAM-1), HLA-DR, CD25 (α-цепь IL-2R) и проапоптотический CD95(Fas)-рецепторы.

В результате отмечали, что содержание лимфоцитов с активационными рецепторами адгезии ICAM (CD54⁺) было достоверно снижено у больных с глиобластомами, тогда как у больных с анапластическими глиомами содержание CD54⁺ лимфоцитов незначительно отличалось от такового в контроле (см. табл. 1). Можно предположить, что снижение уровня лимфоцитов, экспрессирующих молекулу адгезии ICAM (CD54⁺), может быть обусловлено сплайсингом молекулы ICAM-1 с мембран лимфоцитов нейроонкологических больных. Эти данные в определенной степени соответствуют данным о снижении данной субпопуляции клеток у больных со злокачественными опухолями других локализаций [4, 16].

Уровень лимфоцитов, экспрессирующих HLA-DR-рецептор, был достоверно снижен практически у всех нейроонкологических больных и он не восстанавливался при длительном периоде клинической ремиссии.

Количество лимфоцитов, содержащих рецептор CD25 к α-цепи рецептора ИЛ-2, который в определенной степени отражает активность эффекторного звена иммуногенеза, также было достоверно снижено у нейроонкологических больных с различными вариантами клинической ремиссии. Содержание CD25⁺ лимфоцитов

несколько повышалось у больных с глиомами при длительном периоде клинической ремиссии. Так, у больных с глиобластомами содержание CD25⁺ лимфоцитов достоверно повышалось до (6,8±0,63)% при длительном периоде клинической ремиссии по сравнению с коротким периодом ремиссии — (2,6±0,23)%, но не достигало значения в контроле (15,1±1,5)%.

Количество проапоптотических CD95⁺ лимфоцитов в периферической крови у нейроонкологических больных напротив было достоверно увеличено при всех изученных вариантах клинической ремиссии по сравнению с таковыми в контроле (см. табл. 1). В настоящее время накапливаются сведения о проапоптотическом действии опухоли и факторов, которые она продуцирует, на лимфоциты [23]. Причем было установлено, что проапоптотическому действию опухоли подвергаются как CD4⁺ [28], так и CD8⁺ лимфоциты [31]. Некоторые исследователи [31] отмечали, что 15–30% CD95⁺-аннексин⁺ лимфоцитов, отражающих проапоптотическое их состояние, было выявлено среди популяции CD8⁺ CD28⁺ эффекторных лимфоцитов.

Известно также, что к активационному или проапоптотическому сигналу относятся молекулы с терминальными углеводными остатками. В связи с этим была изучена экспрессия некото-

рых рецепторов к лектинам, отражающим активационные, контрсупрессорные SBA⁺-рецепторы к лектину сои [18], LCL⁺-рецепторы к лектину чечевицы, содержащие α-маннозу и экспрессирующиеся на активированных лимфоцитах CD4⁺ или клетках, в стадии пролиферативной активности [19, 20]; LCA⁺-рецептор, связывающий α-фукозу и определяемый на активированных макрофагах [32], и проапоптотический PNA⁺-рецептор [21, 29] на клетках глиом и периферических мононуклеарах в зависимости от длительности послеоперационной ремиссии (табл. 2).

Было установлено, что среди периферических лимфоцитов доноров определялось незначительное число лимфоцитов, экспрессирующих проапоптотический рецептор с терминальной молекулой D-галактозы и рецептор к лектину арахиса (PNA⁺). PNA⁺-рецептор на контрольных препаратах мозга не выявляли. У больных с глиомами при всех изученных вариантах ремиссии отмечали достоверное увеличение содержания PNA⁺ лимфоцитов в периферической крови в 3–4 раза по сравнению с таковыми у доноров (см. табл. 2).

Необходимо отметить, что содержание PNA⁺ опухолевых клеток было достоверно выше при наиболее коротком (1,5 мес) периоде клинической

Таблица 2. Распределение рецепторов к лектинам на периферических лимфоцитах и клетках глиом в зависимости от длительности послеоперационной ремиссии

Длительность послеоперационной ремиссии, мес	Степень анаплазии опухоли мозга	Количество случаев	Распределение лимфоцитов и клеток глиом с рецепторами (%) к лектинам						
			Среда	чечевицы D-man-nosa LCL	пшеницы NAcGlc WGA	бузины NacNeu SNA	арахиса D-Gal PNA	сои NacGal SBA	бобовника L-Fukosa LCA
1,5±0,2	I	1	—	—	—	—	—	—	—
	II	2	Кровь	32,5±4,9**	57,5±5,6	42,0±4,2	28,8±3,4**	34,5±0,4	16,5±2,8**
	III	7	Опухоль	63,6±2,3**	76,5±3,5**	50,5±3,4**	56,6±2,5**	52,5±3,4	23,9±2,5
	IV	4	—	—	—	—	—	—	—
3,5±0,5	I	3	Кровь	40,1±9,0	61,0±8,2	49,0±7,4	27,2±4,3	33,7±6,7	37,8±7,2
	II	1	Опухоль	53,1±6,9*	55,1±6,9*	44,4±6,9	24,7±6,6	37,3±4,4	23,8±5,4
	III	10	—	—	—	—	—	—	—
	IV	5	—	—	—	—	—	—	—
15,1±1,5	I	4	Кровь	58,6±8,0**	76,2±5,0**	69,2±4,0**	41,5±5,9	50,8±6,0**	44,8±5,3**
	II	11	Опухоль	27,3±6,6**	30,0±6,0**	28,7±4,2**	30,0±3,6*	21,0±3,1**	17,9±3,3**
	III	13	—	—	—	—	—	—	—
	IV	1	—	—	—	—	—	—	—
Контроль	Доноры	25	Кровь	31,7±8,8	66,1±8,3	64,0±6,0	9,0±2,5	48,0±6,0	26,5±2,9
	Травма	5	Клетки мозга	11,0±1,5	25,1±5,6	20,0±5,6	—	—	5,8±2,1

Примечание. * — достоверность отличий по отношению к показателям доноров, P<0,01;

** — достоверность отличий между показателями при различных периодах клинической ремиссии, P<0,01

кой ремиссии и составляло $(56,6 \pm 2,5)\%$. Следует также подчеркнуть, что содержание PNA⁺ опухолевых клеток при коротком периоде ремиссии превышало в 2 раза содержание PNA⁺ периферических мононуклеаров (см. табл. 2).

Сравнивая различные типы проапоптотических рецепторов, способных индуцировать апоптоз — CD95 к Fas-лиганду и D-галактозо-содержащий PNA⁺-рецептор — можно отметить общую тенденцию к достоверному увеличению содержания периферических лимфоцитов с проапоптотическими рецепторами у нейроонкологических больных (см. табл. 1, 2). Однако не совсем понятен факт увеличения содержания клеток глиом с проапоптотическим PNA⁺-рецептором при наиболее коротком периоде ремиссии. Можно высказать только предположение, что не все клетки, несущие проапоптотические рецепторы, вступают в апоптоз. Известно [6], что в опухолевых клетках существуют различные механизмы, блокирующие апоптотический сигнал. Однако накапливаются клинические данные о случаях, когда апоптотический индекс коррелирует с интенсивным ростом опухоли и коротким периодом клинической ремиссии [2, 27]. Полагают, что данный феномен может быть связан с соотношением активационных, супрессорных и проапоптотических сигналов на опухолевых клетках и лимфоцитах в каждом конкретном случае [1, 2, 3].

В связи с этим, с нашей точки зрения, целесообразно рассматривать параллельно различные типы активационных, супрессорных и проапоптотических рецепторов на опухолевых и иммунокомпетентных клетках.

Так, было отмечено, что D-маннозосодержащий LCL⁺-рецептор, ответственный за интенсивность пролиферативной реакции лимфоцитов и опухолевых клеток, был достоверно увеличен на клетках глиом при наиболее коротком периоде клинической ремиссии. Содержание LCL⁺-клеток глиом при наиболее коротком периоде ремиссии составляло $(63,6 \pm 2,3)\%$ и достоверно снижалось при наиболее продолжительном периоде ремиссии — $(27,3 \pm 6,6\%)\%$. Количество лимфоцитов с LCL⁺-рецептором при коротком периоде клинической ремиссии не отличалось от такового у доноров, тогда как при наиболее длительном периоде ремиссии, составлявшем 15 мес, содержание лимфоцитов с пролиферативным LCL⁺ маркером было достоверно выше, чем в контроле и при короткой ремиссии. Обращает на себя внимание также тот факт, что длительная ремиссия сопровождалась достоверным преобладанием количества LCL⁺ периферических лимфоцитов по сравнению с количеством LCL⁺ опухолевых клеток. Таким образом, можно сделать вывод, что быстрый рост глиомы по

сравнению с периферическими мононуклеарами связан с преобладанием активационных углеводных рецепторов LCL⁺ на опухолевых клетках (см. табл. 2).

Содержание лимфоцитов с маркером В-супрессорных лимфоцитов WGA⁺, содержащих гликопротеидный рецептор с терминальным дисахаридом N-ацетилнейраминовой кислоты—N-ацетилглюкозамина (NAcNeu-NAcGlc) [11], было несколько снижено при коротком периоде клинической ремиссии и увеличено (по сравнению с контролем) при длительном периоде клинической ремиссии (см. табл. 1). Напротив, количество WGA⁺ клеток глиом при коротком периоде ремиссии было достоверно выше и составляло $(76,5 \pm 3,5)\%$ по сравнению с таковым клеток мозга без опухолевой патологии $(25,1 \pm 5,6)$ и периферических мононуклеаров (см. табл. 2). Можно предположить, что увеличение экспрессии терминальных молекул N-ацетилглюкозамина, нейраминовой кислоты, L-фукозы и D-маннозы на опухолевых клетках при количественном преобладании по сравнению с периферическими мононуклеарами может блокировать цитотоксический эффект натуральных киллеров (NK) и цитотоксических лимфоцитов (ЦТЛ). В модельных опытах *in vitro* этот феномен доказан. На основании изменения гликолизирования опухолевых клеток разрабатываются поливалентные вакцины, состоящие из нескольких названных углеводов конъюгированных с гемоцианином [21, 26].

Полученные результаты клинико-иммунологических исследований дают основания полагать, что при развитии глиом головного мозга происходит увеличение содержания периферических лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы к лектинам, особенно маннозо- (LCL⁺) и галактозо- (PNA⁺) специфическим. Параллельно происходит снижение количества активационных антигенов лимфоцитов CD25⁺ и HLA-DR⁺, что косвенно может отражать снижение эффективных противоопухолевых реакций у нейроонкологических больных в послеоперационный период. Наши данные подтверждаются результатами других исследователей [23, 27] о том, что галактозоспецифические лектины определяются при глиомах различной степени анаплазии и при инвазивном росте глиомы.

Увеличенное количество опухолевых клеток, содержащих активационные лектиновые рецепторы иммунокомпетентных клеток, особенно выраженное при коротком периоде клинической ремиссии, по-видимому, может определять феномен иммунозависимого роста глиомы.

Выводы. 1. В послеоперационный период у нейроонкологических больных установлен дисбаланс популяций основных иммунорегулятор-

ных клеток, который изменялся в зависимости от гистоструктуры опухоли мозга и длительности послеоперационной ремиссии.

2. У всех нейроонкологических больных при различных сроках послеоперационной ремиссии достоверно был снижен уровень лимфоцитов с активационными рецепторами HLA DR⁺ и также CD25⁺ (рецептор к α -цепи ИЛ-2), что может свидетельствовать о снижении эффективных эффекторных реакций иммуногенеза.

3. Содержание периферических лимфоцитов с проапоптотическими рецепторами CD95⁺ и D-галактозосодержащим PNA⁺ было достоверно высоким у всех нейроонкологических больных по сравнению с таковым у доноров, что может быть связано с проапоптотическим воздействием опухоли на иммунокомпетентные клетки, которое может реализоваться через различные сигнальные молекулы.

4. При коротком периоде клинической ремиссии количество активационных, супрессорных и проапоптотических углеводных рецепторов больше на опухолевых клетках, чем на периферических лимфоцитах, а при длительном периоде клинической ремиссии отмечается обратная тенденция — количество иммунорегуляторных углеводных рецепторов к лектинам в 1,5–2,5 раза больше на периферических мононуклеарах, чем на опухолевых клетках.

5. Изменение соотношения в распределении иммунорегуляторных рецепторов с терминальными углеводными остатками на периферических лимфоцитах и аутологичных опухолевых клетках может прогнозировать варианты течения послеоперационного периода у нейроонкологических больных.

Список литературы

- Аббасов С.Г., Кушлинский Н.Е., Липкин В.М. и др. Факты и перспективы изучения Fas-FasL системы с норме и при патологии // Успехи соврем. биол. — 2000. — №3. — С.303–318.
- Абраменко И.В., Фильченков А.А. Оценка параметров апоптоза в диагностике онкологических заболеваний, их прогноз и оптимизация схем терапии // Вопр. онкол. — 2003. — №1. — С.21–30.
- Акимов А.А., Иванов С.Д., Хансон К.П. Апоптоз и лучевая терапия злокачественных новообразований // Вопр. онкол. — 2003. — №3. — С.261–269.
- Александров А.В., Джексон А.М., Румянцев А.Г. Анализ механизма межклеточной модуляции адгезии ICAM // Иммунология. — 1997. — №1. — С.4–13.
- Бережная Н.М., Городецкий Б.А. Интерлейкин-2 и злокачественные новообразования. — К.,1992.
- Галицкий В.А., Канцерогенез и механизмы внутриклеточной передачи сигналов // Вопр. онкол. — 2003. — №3. — С.278–293.
- Гнедкова И.А., Горобец О.Б., Яроцкий Р.Ю. и др. Варианты функциональной активности регуляторных лимфоцитов у больных нейроонкологического профиля с различными сроками послеоперационной ремиссии // Нейрохирургия. — 1992. — Вып.25. — С.97–102.
- Гнедкова И.О., Бродська И.О., Главацкий О.Я. Новый підхід до тактики хіміо-імунотерапії гліом мозку на основі визначення вуглеводних рецепторів до лектинів на мембранах лімфоцитів та клітинах пухлин // Перший з'їзд нейрохірургів України (24–26 листопада 1993 р.): Тез.доп. — К.,1993. — С.154–155.
- Гнедкова И.А., Лисяний Н.И., Ромоданов С.А. и др. Распределение иммунорегуляторных рецепторов к лектинам на мембранах клеток глиом и аутологичных периферических мононуклеарах у нейроонкологических больных в зависимости от степени анаплазии опухоли мозга // Бюл. эксперим. биол. — 1996. — №10. — С.441–445.
- Демиденко Д. Экспрессия галектина-1 и его роль в адгезии опухолевых клеток // Эксперим. онкол. — 2002. — №3. — С.163–166.
- Калинкович А.Г. Использование лектинов для получения популяций, обогащенных иммунорегуляторными клетками // Иммунология. — 1987. — №1. — С.31–34.
- Лисяний М.І., Скітяк С.А. Динаміка субпопуляційного складу лімфоцитів у хворих на гліоми різного ступеня анаплазії // Імунологія та алергологія. — 2002. — №3. — С.44–63.
- Лихтенштейн А.В., Шапот В.С. Опухолевый рост: ткани, клетки, молекулы // Пат.физиол. — 1998. — №3. — С.25–44.
- Луцик А.Д., Детюк Е.С., Луцик М.Д. Лектины в гистохимии. — Львов: Изд-во Львов. ун-та, 1989. — 14 с.
- Полевщиков А.В. Лектины в защитных реакциях хордовых животных // Иммунология. — 1996. — №1. — С.48–56.
- Шепелева И.И., Чехонин В.П. Нейрональные молекулы клеточной адгезии (структура, функции, клинико-диагностические перспективы) // Журн неврологии и психиатр. им. С.С. Корсакова. — 1996. — Т.96, №5. — С.113–118.
- Хьюз Р. Гликопротеины / Пер. с англ. — М.: Мир, 1985. — 140 с.
- Brines R., Lehner T. Characterization of human T8⁺ suppressor and contrasuppressor cells, separated by the lektin *vicca villosa* // Immunology. — 1988. — V.63, №2. — P.247–254.
- Brock J., Schulze H.A., Neels P. Detection of mannose-binding proteins on mouse lymphocytes // Europ. J. Cell. Bid. — 1991. — V.54, №1. — P.90–94.
- Brody D.T., Durum S.K. Membrane IL-1. IL-1-alpha precursor binds to the plasma membrane via a lektin-like interaction // J. Immunol. — 1989. — V.143, №4. — P.1183–1187.
- Glinsky G.V., Price J.E., Glinsky V.V. Inhibition of human breast cancer metastasis in nude mice by synthetic glycoamines // Cancer Res. — 1996. — V.56, №23. — P.5319–5324.
- Nakomori S. Tumor malignancy defined by aberrant glycosylation and sphingoglycolipid metabolism // Cancer Res. — 1996. — V.56, №23. — P.5309–5318.

23. Hung K., Hayashi R., Latond-Walker A. et al., The central role the CD4⁺ T cell in the antitumor immune response // *J. Exp. Med.* — 1998. — V.198. — P.2357.
24. Parcs D.R., Lanier L.L., Herrenberg L.A. Flow cytometry and fluorescence activated cell sorting (Facs) // *Handbook of Experimental Immunology.* — 1986. — Ch.29. — 324 p.
25. Ragupathi G., Koide F., Sathyan N. et al., A pre-clinical study comparing approaches for augmenting the immunogenicity of a heptavalent KLH-conjugate vaccine against epithelial cancers // *Cancer Immunol. Immunother.* — 2003 — V.52, №10. — P.608–616.
26. Rorive S., Belot N., Decaestecker C. et al. Galectin-1 is highly expressed in human gliomas with relevance for modulation of invasion of tumor astrocytes into the brain parenchyma // *Glia.* — 2001. — V.33. — P.241–255.
27. Sandik J., Boermeester M.A., Gisbertz S.S., et al. Lymphocyte subsets and Th1/Th2 immune responses in patients with adenocarcinoma of the oesophagus or oesophagogastric junction: relation to pTNM stage and clinical outcome // *Cancer Immunol. Immunother.* — 2003. — V.52, №10. — P.617–624.
28. Sharon N., Lis H. Glycoproteins: structure and function // *Glycosciences: Status and perspectives* / Ed.:H.-J. Gabius, S.Gabius. — London: Chapman and Hall, 1997. — P.133–162.
29. Sherblom A.P., Sathyamoorthy N., Decker J.M. IL-2, a lectin with specificity for high mannose glycopeptides // *J. Immunol.* — 1989. — V.143, №3. — P.939–944.
30. Tsukishiro T., Donnenberg A.D., Whiteside TL. Rapid turnover of the CD8⁺ CD28⁻ T cell subset of effector cells in the circulation of patients with head and neck cancer // *Cancer Immunol. Immunother.* — 2003. — V.52, №10. — P.599–607.
31. Zanetta J-P. Lectins and carbohydrates in animal cell adhesion and control of proliferation // *Glycosciences: Status and perspectives* / Ed.:H.-J. Gabius, S.Gabius. — London: Chapman and Hall, 1997. — P.439–458.
32. Yamaoka K., Mishima K., Nagashima Y. et al. Expression of galectin-1 mRNA correlates with malignant potential of human gliomas and expression of antisense galectin-1 inhibits the growth of 9 glioma cells // *J. Neurosci Res.* — 2000. — V.59. — P.722–730.

**Особливості імунологічних порушень
при гліомах головного мозку в період ремісії**

*Лісяний М.І., Гнедкова І.О., Бичкова С.А.,
Розуменко В.Д., Главатський А.Я., Малишева Т.А.*

За допомогою клініко-імунологічних досліджень вивчені особливості розподілу рецепторів глікопротеїдів до лектинів на циркулюючих мононуклеарах і клітинах гліоми, а також CD кластерів диференціювання на лімфоцитах залежно від ступеня анаплазії гліоми та тривалості періоду ремісії, що надало можливість виділити два основних ланцюги у патогенезі гліоми, а саме порушення в рецепторних механізмах імунної відповіді та імунозалежний ріст злоякісної гліоми.

**Features of immunological disorder at brain
gliomas in the period of remission**

*Lisyanii M.I., Gnedkova I.A., Bichkova S.A.,
Rozumenko V.D., Glavatsky O.Ya., Malysheva T.A.*

The peculiarities of glycoprotein receptors assessment on the peripheral circulated mononuclears, on glioma cells and the subpopulations of peripheral lymphocytes of patients with different anaplasia's degree of gliomas were examined. The indexes were compared with the time of postoperative remission. According to this the two ways of glioma's pathogenesis were established: defective receptors mechanism of immune system and immunodependent glioma growth.

КОМЕНТАР

до статті Лисяного М.І., Гнедкової І.О., Бычкової С.А., Розуменка В.Д., Главацького О.Я., Малышевої Т.А. *“Особенности иммунологических нарушений при глиомах головного мозга в период ремиссии”*

Як відомо, зростання онкозахворюваності та нейроонкозахворюваності в Україні та у світі в цілому є значною медикосоціальною проблемою. Серед первинних пухлин головного мозку у дорослих найбільша частка припадає на гліобластому — високолетальну пухлину з середньою виживаємістю пацієнта один рік. Тільки 2–5% пацієнтів виживають довше 3 років. Незадовільні результати комбінованого лікування гліом з використанням найсучаснішої хіміотерапії, променевої та імунотерапії обумовлюють актуальність подальшого вивчення механізмів виникнення і розвитку гліом, розробку на основі цих досліджень обґрунтованих засобів лікування цієї патології. Нові підходи до лікування гліом із застосуванням генномолекулярної та генноклітинної терапії потребують досліджень із залученням якісно нових методичних прийомів, що дають уявлення про перебіг процесів на внутрішньоклітинному і молекулярному рівнях. Стаття колективу авторів, присвячена імунологічним особливостям гліом, торкається саме окресленого кола проблем, що визначає її актуальність і цінність в науково-практичному плані.

Патогенетичні механізми, що ведуть до розвитку і прогресування злоякісних гліом, до кінця не ясні. Залишається предметом протирічних дискусій роль імунної системи у контролі пухлинного розвитку, росту і розповсюдження. В деяких випадках імунні клітини можуть вносити вклад у захист організму від пухлини і Т-лімфоцити відіграють критичну роль у протипухлинній відповіді. У випадку гліоми багато аспектів “діалогу” між клітинами пухлини і Т-клітинами не ясні.

Метою представленої роботи є вивчення експресії рецепторів до лектинів на лімфоцитах периферичної крові і пухлинних клітинах у співставленні з основними і активованими субпопуляціями лімфоцитів у хворих з гліомами. Автори дослідили зміни у експресії диференційних антигенів CD і вуглеводних рецепторів до лектинів на лімфоцитах периферичної крові і на аутологічних клітинах пухлин (гліом різного ступеня анаплазії) і встановили, що у нейроонкологічних хворих наявний дисбаланс популяції основних імунорегуляторних клітин (особливо популяції кілерів CD16⁺), спостерігається зниження кількості лімфоцитів з активаційними рецепторами (HLA-DR⁺, CD25⁺) і зростає кількість периферичних лімфоцитів з проапоптотичними рецепторами (CD95⁺, PNA⁺). Таким чином, у хворих з гліомами наявне зниження ефektorних реакцій імунної відповіді, що може бути спричинене проапоптотичною дією пухлини на імунокomпетентні клітини, яке реалізується через різні сигнальні молекули.

Наведені дані узгоджуються з відомими даними літератури. Так, припускають, що пухлинний ріст є результатом дисбалансу між проліферацією клітин і програмованою клітинною смертю. Очевидно, апоптоз Т-лімфоцитів, регульований через продукцію ІФН- γ або TNF- α , відіграє важливу роль у патогенезі гліобластом [Чумаков В.А. та ін., 2002], оскільки при злоякісних гліомах встановлено нездатність тумор-інфільтруючих лімфоцитів індукувати значну загибель клітин пухлини. Скоріше за все, численні механізми створюють стан імуносупресії в мікрооточенні гліоми, включаючи секрецію різних цитокінів (розчинні імуносупресивні фактори TGF- β (трансформуючий ростовий фактор- β), ІЛ-10) або взаємодії за типом клітина-клітина (експресія Fas-ліганда (CD95) клітинами гліоми) [Didenko V.V. et al., 2002; Walker P.R., Saas P., Dietrich P.Y., 1997]. Можливо, що вказані механізми опосередковують вислизання злоякісних пухлин головного мозку від імунної відповіді.

Так, за нашими даними [Лисяний Н.И., Любич Л.Д. та ін., 2003] у хворих з гліомами рівень Hoeschst 33342+ апоптичних клітин серед лімфоцитів периферичної крові перевищує число апоптичних клітин в пулі лімфоцитів в нормі, що корелює з даними інших авторів [Чумаков В.А. та ін., 2002]. Вивчення впливу супернатантів 48-годинних культур гліом на процент апоптозу лімфоцитів здорових донорів дозволило встановити факт більш сильного проапоптогенного впливу злоякісної гліоми у порівнянні з доброякісною. Причому, проапоптогенний вплив у даному випадку чинився розчинними факторами, продукованими пухлиною, зокрема, TGF- β .

На основі отриманих даних можна дійти висновку, що одним з механізмів реалізації супресивного впливу гліом, особливо злоякісних, на клітини імунної системи хворого є продукція розчинних проапоптогенних факторів, що чинять дію на клітини-мішені (лімфоцити).

Проведення проапоптотичного сигналу при з'єднанні ліганда з рецепторами регіону клітинної смерті відбувається із залученням адапторних білків FADD/MORT1, чий N-термінальний регіон (DED) в свою чергу з'єднується з аналогічним регіоном прокаспази 8, викликаючи її аутокаталітичну активацію [Владимирская Е.Б., 2002]. Один із рецепторів «регіону клітинної смерті» антиген Fas/APO-1 (CD95) експресований у людини на кортикальних тимоцитах, активованих Т- і В-клітинах. Як у нормальних, так і в злоякісних клітинах експресія Fas/APO-1 підвищується після культивування з ІЛ-2 та ІФН- γ [Степанов Ю.М. та ін., 2000].

За нашими даними [Лисяний Н.И., Любич Л.Д. та ін., 2003], при гліомах виявляється селективний дефект продукції ІЛ-2 і зниження експресії α -ланцюга ІЛ-2R (CD25⁺) лімфоцитами, що узгоджується з відомими даними [Бережная Н.М., Чехун В.Ф., 2000]. Очевидно, гліобластома генерує фактори, що супресують Т-клітинну відповідь і порушують цитокіновий профіль антигенпредставляючих клітин, оскільки продукція ІЛ-2 лімфоцитами хворих з гліомами, а також експресія α -ланцюга ІЛ-2R зростала після оперативного втручання, що, мабуть, пояснюється елімінацією супресивного ефекту гліальної пухлини, який реалізується через інгібіцію ІЛ-2-опосередкованої Т-клітинної проліферації [12].

Таким чином, рівень апоптичних Hoeschst 33342+ клітин серед лімфоцитів периферичної крові у хворих з гліомами, а також експресія Fas-антигену (CD95⁺) перевищує число апоптичних клітин в пулі лімфоцитів в нормі. Більш детальний аналіз показав, що у хворих з гліомами індекс CD25⁺/CD95⁺, що відображає параметр «утворення/елімінація», значно нижчий, ніж у здорових осіб, що свідчить про переважання готовності до Fas-опосередкованого апоптозу над готовністю лімфоцитів до вступу на шлях проліферації і диференціювання. Індекс HLA-DR⁺/CD95⁺, що відображає параметр «дозрівання/елімінація», також був низьким, що свідчить про переважання готовності

до Fas-опосередкованого апоптозу над готовністю лімфоцитів до набуття пізнього диференційного антигену, що призводить до дефіциту основних популяцій імунокомпетентних клітин. Після оперативного втручання у хворих з гліомами III–IV ступеня анаплазії знижувалась як кількість апоптичних Hoechst 33342+ лімфоцитів, так і значення індексів CD25⁺/CD95⁺, HLA-DR⁺/CD95⁺, що дозволяє дійти висновку про припинення чи зниження впливу проапоптогенних стимулів, які чинить пухлина (гліома) на імунну систему хворого.

Отже, підсумовуючи літературні дані і власні дослідження, можна заключити, що одним з механізмів реалізації супресивного впливу гліом, особливо злоякісних, на клітини імунної системи хворого є продукція розчинних проапоптогенних факторів, що діють на клітини-мішені (лімфоцити) і порушують процеси їх нормального дозрівання і диференціювання в імунокомпетентні клітини.

Таким чином, “вислизання” злоякісних пухлин головного мозку від імунної відповіді опосередковують численні механізми, що включають розчинні фактори (TGF- β , IL-10) і клітинні сигнали (CD95-ліганд-індукований сигнал).

Необхідно зазначити, що практична цінність статті колективу авторів полягає в тому, що досліджувані показники (експресія рецепторів до лектинів на лімфоцитах периферичної крові і пухлинних клітинах у співставленні з основними і активованими субпопуляціями лімфоцитів у хворих з гліомами) розглядаються в залежності від тривалості післяопераційної ремісії, оскільки співставлення клініко-імуннологічних ознак при гліомах із тривалістю післяопераційної ремісії є найбільш адекватною оцінкою значення цих ознак у перебігу патологічного процесу. Отримані в роботі результати значно доповнюють сучасні уявлення про роль та значення різних субпопуляцій лімфоцитів при пухлинному рості у ЦНС.

1. Бережная Н.М., Чехун В.Ф. Система интерлейкинов и рак. — К.: ДИА, 2000. — 224 с.
2. Владимирская Е.Б. Механизмы апоптотической смерти клеток // Гематол. и трансфузиол. — 2002. — Т.47, №2. — С.35—40.
3. Лисяный Н.И., Любич Л.Д., Скитяк С.А., Гнедкова И.А. Исследование интенсивности апоптоза лимфоцитов периферической крови больных с глиомами и его корреляции с системой ИЛ-2 и ИФН- γ // Иммунология та алергологія. — 2003. — №4. — С.25—30.
4. Степанов Ю.М., Фильченков А.А., Кушлинский Н.Е. Система FAS/FAS-лиганд / Метод. пособие. — Днепропетровск, 2000. — 48 с.
5. Чумаков В.А., Биктимиров Р.Г., Качков И.А. и др. Клинико-иммунологическая оценка факторов апоптоза периферических лимфоцитов у больных с глиобластомой в предоперационном периоде / Вторая Рос. конф. Нейроиммунопатология (Москва, 21–23 мая 2002 г.): Тез. докл. — М., 2002. — С.85.
6. Didenko V.V., Ngo H.N., Minchew C., Baskin D.S. Apoptosis of T-lymphocytes invading glioblastomas multiforme: a possible tumor defense mechanism // J. Neurosurg. — 2002. — V.96, №3. — P.580—584.
7. Walker P.R., Saas P., Dietrich P.Y. The role of Fas ligand (CD95L) in immune escape: the tumor cell strikes back // J. Immunol. — 1997. — V.158. — P.4521—4524.

*Л.Д. Любич, канд. біол. наук,
ст. наук співроб. Відділу нейроімунології
Інституту нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова АМН України*