

УДК: 616.831—006.4.484:612.017.1:612.124.017.1

## Особливості імунного та цитокінового статусу у хворих з гліомами головного мозку (огляд літератури)

Лісяний М.І., Розуменко В.Д., Скітяк С.А.

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

Ключові слова: *гліома, інтерлейкіни, цитокіни, імунітет, лікування.*

Незважаючи на сучасні досягнення нейрохірургії, результати лікування первинних внутрішньомозкових пухлин головного мозку, особливо злоякісних гліом, ще далекі від бажаних.

Комбіноване лікування пухлин головного мозку, яке складається з максимального видалення їх, променевої та хіміотерапії, не є достатньо ефективним.

Позитивні зрушення в цьому напрямку можливі при вивченні взаємодії пухлини з організмом, а саме — його імунною системою. Необхідно враховувати здатність пухлини пригнічувати імунітет, а також здатність організму стримувати ріст пухлини. Ефективність лікування багато в чому залежить від протипухлинної резистентності, в якій значне місце належить імунним реакціям організму.

Імунологічні фактори забезпечують частину природного захисту організму, який полягає у запобіганні утворенню ракових клітин.

Рядом досліджень показано, що у хворих із злоякісними пухлинами мозку спостерігається пригнічення імунної системи, особливо клітинного імунітету [5].

Н.І.Лісяний і співавтори [6], встановили, що у хворих з гліомами вміст Т-розеткоутворюючих лімфоцитів вірогідно нижчий, ніж у здорових осіб, і це найбільш виражене при злоякісних гліомах. Вміст В-розеткоутворюючих клітин при доброякісних пухлинах не відрізняється від такого ж показника у здорових людей. При злоякісних пухлинах головного мозку абсолютний вміст В-лімфоцитів вищий, ніж при доброякісних пухлинах та у здорових осіб.

У разі наявності пухлин, які безпосередньо впливають на гіпоталамус, виявлено зниження відносного та абсолютного рівнів Т-розеткоутворюючих лімфоцитів, у той час як при інших топографічних групах гліом спостерігається збільшення відносного вмісту В-розеткоутворюючих лімфоцитів, але абсолютна кількість їх не змінена. У міру наростання неврологічних симптомів, погіршення та декомпенсації загального стану хворого відносний і абсолютний вміст Т-лімфоцитів ще більше зменшується, як при

злаякісних, так і при доброякісних пухлинах головного мозку.

У ранній післяопераційний період знижується імунна реактивність організму. Хоча видалення маси пухлини деякою мірою ліквідує її токсичний вплив, повного відновлення імунореактивності при цьому не відбувається.

Інші автори [8] також вказують на зменшення відсоткового вмісту Т-лімфоцитів та їх функціональної активності при незрілих новоутвореннях головного мозку. При зрілих новоутвореннях процентний вміст лімфоцитів периферичної крові коливався в межах норми, але їх функціональна активність була знижена. Ці зміни трактуються авторами як імунодефіцитний стан, розвиток якого при пухлинах головного мозку частково обумовлений також підвищенням супресивної активності Т-клітин.

При дослідженні гуморальної ланки імунітету у хворих з гліомами констатовано, що такі пухлини супроводжуються підвищенням рівня сироваткового імуноглобуліну А (IgA) при зменшенні вмісту імуноглобуліну G (IgG) та імуноглобуліну М (IgM).

Якщо пухлини мозку, розташовані поблизу гіпоталамуса, а, отже, впливають на нього, вміст IgM та IgG в сироватці крові, порівняно з даними тих хворих, у яких пухлини головного мозку не виявляють прямої дії на гіпоталамічні структури, вірогідно нижчий.

Великий інтерес становлять роботи по дослідженню імунологічних показників ліквору хворих з гліомами [6].

Було встановлено, що рівень IgG, IgA, IgM у цих пацієнтів перевищує відповідні величини у здорових осіб.

Найбільший вміст IgM виявлено у лікворі хворих з пухлинами гіпофіза. Значення його утрічі перевищувало зареєстроване у обстежених із злоякісними пухлинами мозку та в 10 разів — одержане у хворих з доброякісними новоутвореннями. Вміст IgG в лікворі хворих із злоякісними пухлинами був статистично вищий, ніж у пацієнтів з доброякісними пухлинами. Найбільш високий рівень IgA зафіксова-

но у хворих з доброякісними пухлинами головного мозку. Показано, що різним видам пухлин — доброякісним, злоякісним, пухлинам гіпофіза — відповідає свій імунний профіль ліквору, що, в свою чергу, відображає стан імунної системи мозку, або, як вважають Ю.А.Малашкія та співавтори [8], стан його імунного бар'єру.

Численні дослідження було проведено з метою вивчення змін субпопуляцій лімфоцитів периферичної крові при гліомах головного мозку, особливо популяцій СК3+, СК4+, СК16+ та СК8+ клітин [5].

СК4+ лімфоцити — хелпери-індуктори, виконують головним чином хелперну функцію. Вони допомагають В-клітинам перетворюватися на антитілопродукуючі плазматичні клітини; а СК8+ лімфоцитам — на зрілі цитотоксичні Т-клітини, макрофагам допомагають виконувати ефекти гіперчутливості уповільненого типу. Наведені функції Т-хелперів реалізуються за рахунок того, що вони, в свою чергу, розділяються на дві субпопуляції — першого та другого типу, які здійснюють хелперні функції шляхом продукування різних цитокінів — інтерлейкінів.

Т-лімфоцити — хелпери першого типу (Тх1) — виробляють інтерферон (IFN- $\gamma$ ), інтерлейкін-2 (IL-2), фактор некрозу пухлин (TNF- $\alpha$ ). Наведені цитокіни активують макрофаги, природні кілерні клітини (NK-клітини), дозрівання цитотоксичних Т-лімфоцитів-кілерів, забезпечуючи переважний розвиток клітинної імунної відповіді.

На противагу їм, Т-лімфоцити-хелпери другого типу (Тх2) продукують інтерлейкін-4 (IL-4), інтерлейкін-5 (IL-5), інтерлейкін-10 (IL-10) та інтерлейкін-13 (IL-13), які відповідають за розвиток гуморальної відповіді, в тому числі за вироблення IgE. Крім того, IL-10 виявляє інгібуючу дію по відношенню до Тх1.

На ранніх етапах імунної відповіді під впливом інтерлейкіну (IL-12), який виробляється антигенпрезентуючою клітиною, диференціювання Тх0 іде переважно в бік дозрівання Тх1, які починають виробляти IL-2, IFN- $\gamma$  та TNF- $\alpha$ . У випадках впливу на Тх0 IL-4, який продукується тканинними базофілами (тучними клітинами) та базофільними гранулоцитами крові, Тх0 починають диференціюватися на Тх2 і виробляти свій цитокіновий профіль: IL-4, IL-5, IL-10, IL-13. IFN- $\gamma$  та IL-10 здатні реципрокно пригнічувати функціонування Тх1 та Тх2 [1]. Встановлено, що Тх1 і Тх2 відповідають за різні імунопатологічні реакції у людини. Так, наприклад, функція Тх1 переважає при розвитку розсіяного склерозу, інсулінозалежного цукрового діабету, аутоімунного тиреоїдиту, хвороби

Крона. В свою чергу, функція Тх2 переважає при нормальному перебігу вагітності, трансплантаційній толерантності, при алергічній патології та у ВІЛ-інфікованих хворих із швидким прогресуванням хвороби.

У боротьбі з внутрішньомозковими пухлинами, такими, як гліома, головну роль відіграє клітинно обумовлена (Тх1) цитотоксична відповідь. Гуморальна імунна відповідь має меншу ефективність внаслідок того, що penetрація антитіл у пухлину *in situ* дуже мала.

IL-6 та IL-10 є продуктами синтезу Тх2 і відповідають за гуморальні механізми захисту. Можливо, що IL-6 та IL-10, похідні з гліом або(і) мікроглії, переключають Т-клітини, що інфільтрують пухлину, на шлях Тх2. Переміщення Т-клітин на Тх2 може надалі посилюватися похідним з гліоми простагландином  $E_2$  (PGE $_2$ ), що пригнічує продукцію IL-12 (сильного Тх1-цитокіну). Виходячи з вищенаведеного, W.H.Brooks et al. [13] зафіксували Тх2-переключення в периферичних мононуклеарах під впливом супернатантів гліомної культури.

СК8+ лімфоцити — 0s субпопуляція Т-лімфоцитів, яка може диференціюватися на Т-кілери (цитотоксичні Т-лімфоцити) або на Т-супресори і виконувати різноманітні функції залежно від потреб організму.

Механізм цитолітичної дії Т-лімфоцитів-кілерів полягає в такому: на першому етапі (програмованого лізису) між клітиною-ефектором (кілером) та клітиною-мішенню встановлюється специфічний контакт; на другому етапі (легального удару) клітини-кілери здійснюють літичну дію на клітини-мішені; на третьому етапі (заключному) відбувається ушкодження клітин-мішеней. Таким чином, Т-кілери тільки запускають цитолітичну реакцію, але не беруть участі у безпосередньому руйнуванні клітин-мішеней. Сама кілерна клітина може брати участь у послідовному руйнуванні декількох клітин-мішеней, залишаючись при цьому неушкодженою та функціонально активною.

Ще одну групу клітинних факторів, які мають велике значення для протипухлинного захисту, складають кілерні клітини. До них належать: NK-клітини, просто кілерні (К-клітини) та лімфокінактивовані кілерні клітини (ЛАК-клітини).

Загальною особливістю NK- та К-клітин є здатність лізувати клітини-мішені без попередньої сенсibiliзації, що відрізняє їх від цитотоксичних Т-лімфоцитів-кілерів. Позитивна регуляція Т-клітинної активності здійснюється інтерфероном та IL-2, а негативна — PGE $_2$ , сироватковими інгібіторами протеїназ.

ЛАК-клітини — це звичайні лімфоцити, які

були активовані під впливом ІЛ-2 та набули здатності виконувати клінінговий ефект.

Роботами А.І.Свадовського та співавторів [10], які вивчали імунний статус хворих з гліомами головного мозку, показано, що найбільше пригнічення спостерігалось в популяціях СК3+, СК4+ та СК16+ лімфоцитів. Автори стверджують, що параметри імунного статусу не розрізнялися залежно від типу пухлини (первинна чи метастатична). Не виявлено будь-якої кореляції між ступенем атипії первинної пухлини мозку і параметрами імунного статусу хворих.

На протипагу даним вищезгаданих авторів, М.І.Лісяний та співавтори [7] вказують на вірогідне зменшення популяції СК3+, СК4+ та СК8+ лімфоцитів периферичної крові у хворих з гліобластомою порівняно з хворими з астроцитомою (І—ІІ ступінь злоякісності).

Дослідження останніх років [29] були спрямовані на виявлення причини такого пригнічення Т-ланки імунітету. Встановлено, що це явище є наслідком того, що гліомні клітини вивільняють імуносупресивні фактори, серед яких трансформуючий фактор росту (TGF- $\beta$ ) та простагландини [14].

TGF- $\beta$  має численні впливи на імунну систему, більшість з яких інгібуючі. TGF- $\beta$  контролює низхідні елементи каскадної клітинної активації та регулює експресію генів, які є есенціальними для клітинної прогресії та мітозу.

У той час, як TGF- $\beta$  обумовлений “арешт” Т-клітинних ліній проявляється в їх апоптозі *in vitro*, похідний з гліоми TGF- $\beta$  може перешкоджати елімінації гліомних імуномедіованих клітин завдяки апоптозу лімфоцитів, інфільтруючих пухлину (ЛІП).

Апоптоз Т-клітин у мозку може бути спричинений відсутністю професійних антигенпрезентуючих клітин або відповідних костимулюючих сигналів [29].

Велика кількість проведених досліджень *in vitro* свідчить, що похідний з гліом TGF- $\beta$  може робити недієздатними розвинуті *in vitro* та локально ЛАК-клітини та ЛІП [14,29]

Отже, на TGF може бути частково покладена відповідальність за недостатність адоптивної імунотерапії при злоякісних гліомах [6].

Велике значення у протипухлинному захисті надається цитотоксичним Т-лімфоцитам. Сучасна імунотерапія гліом передбачає одним з напрямків своєї дії підвищення цитотоксичної функції імунокомпетентних клітин.

О.В.Маркова [9], досліджувала стан кілерної активності лімфоцитів периферичної крові у хворих з пухлинами головного мозку. Автор виявила значне зниження цієї функції у хворих з гліомами ІІІ—ІV ступеня анаплазії та

відсутність порушення функціональної активності НК-клітин у хворих з гліомами І—ІІ ступеня анаплазії. Констатовано різке зниження НК-функції при використанні глюкокортикоїдної терапії та на 5—7-му добу після оперативного втручання. Зареєстровано різні величини НК-активності при ліво- та правосторонній локалізації пухлини.

На сучасному етапі цитотоксичні Т-лімфоцити використовуються для клінічного лікування пухлин. Н.Тsurushima et al. [8] запропонували метод індукції аутологічних цитотоксичних Т-лімфоцитів з лімфоцитів периферичної крові при їх культивуванні з фрагментами тканин мультиформної гліобластоми і ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6 та ІFN- $\gamma$ . Через 2 тиж лімфоцити знищували 82—100% клітин мультиформної гліобластоми протягом 48 год, в той час як аутологічні лімфокинеактивовані кілери убивали тільки 33% гліобластомних клітин у тих же умовах. Автори рекомендують використовувати ці клітини для імунотерапії пухлин мозку [27].

Інтерлейкіни та інші цитокіни беруть безпосередню участь у всіх реакціях системного та місцевого імунітету, в тому числі і протипухлинного. Етапами протипухлинної відповіді є розпізнавання пухлинних антигенів, активація антигенпрезентуючих клітин, міграція імунокомпетентних клітин до ділянки розвитку пухлини, індукція апоптозу клітин пухлини [24]. При наявності пухлинного процесу завжди існує загроза поламки вищезгаданих етапів, що призводить до того, що імунна система не дає адекватної відповіді на появу пухлини.

Серед інтерлейкінів є такі, основним ефектом яких є індукція цитотоксичної активності різних кілерних клітин. До них належать ІЛ-2, ІЛ-12, ІЛ-15.

ІЛ-2 — перший з інтерлейкінів, у якого було виявлено здатність індукувати активність майже всіх клонів цитотоксичних клітин. Також він уперше був використаний для імунотерапії раку [3].

При різноманітних злоякісних пухлинах у людини та тварин спостерігається зменшення продукування ІЛ-2 Т-лімфоцитами-хелперами першого типу (Тх1), що може корелювати зі зниженням активності кілерних клітин [2].

Треба зауважити, що вірогідне зменшення продукування даного інтерлейкіну має місце тільки на пізніх стадіях розвитку пухлини, що особливо характерно для ІІІ—ІV стадії хвороби. Аналогічні результати отримано при вивченні вироблення ІЛ-2 лімфоцитами регіонарних та віддалених лімфатичних вузлів в експериментах з первинною рабдоміосаркомою мишей.

Не тільки зменшення продукування самого ІЛ-2 може призводити до порушення проти-пухлинного захисту. Особливу роль відіграють зміни рецептора ІЛ-2 (ІЛ-2R) та генів, що кодують даний рецептор.

При деяких пухлинах мозку, а саме гліобластомах, розвивається селективний дефект продукування ІЛ-2R на цитотоксичних клітинах [ 12].

З'ясування можливих механізмів зниження експресії ІЛ-2R показало, що воно пов'язане з низьким рівнем тирозинфосфорилування в Т-клітинах. Такий висновок зроблено в результаті паралельного вивчення продукування ІЛ-2 та експресії ІЛ-2R на Т-клітинах хворих з гліобластомою у відповідь на дію ІЛ-2 . При інших пухлинах мозку цього не спостерігалось.

Встановлено також, що зміна вироблення ІЛ-2 та експресії ІЛ-2R має вибіркового характеру і не поширюється ні на ІЛ-4 чи ІFN- $\gamma$ , ні на експресію рецепторів до цих лігандів.

Авторами [12] також встановлено, що проліферативна реакція Т-лімфоцитів, стимульованих ФГА, у хворих з гліобластомами була значно слабшою порівняно з хворими з менінгіомами, олігодендрогліомами та здоровими донорами.

Значною перешкодою на шляху реалізації позитивних впливів ІЛ-2 можуть бути високі концентрації розчинної форми рецептора до ІЛ-2 (sIL-2R). Високий рівень sIL-2R зареєстровано при різноманітних злоякісних новоутвореннях: меланомах, раку нирки, кишечнику, легень, сечового міхура. Також високий рівень sIL-2R спостерігається при метастазуванні пухлини і прогресуючих формах захворювання. R.Nano et al. [20] досліджували сироваткові рівні ІЛ-2 та sIL-2R у хворих з гліомами. Ними виявлено, що сироватковий рівень ІЛ-2 був значно підвищений у всіх хворих, у той час як рівень sIL-2R був високим тільки при гліобластомах.

Інтерлейкін-12 (ІЛ-12) — поліпотентний активатор клітинного імунітету з протипухлинною та антиметастатичною активністю . Він є активним синергістом ІЛ-2 в індукції цитотоксичних клітин (Т-лімфоцитів та НК-клітин). Його дія простежується в різних моделях пухлинного росту, а також при дослідженні пухлинних клітин людини. O.Salvucci et al. [25 ] довели, що літичний потенціал НК-клітин під впливом ІЛ-12 зростає, він стає активним індуктором синтезу ІFN та відіграє ключову роль у посиленні відповіді Тх1-лімфоцитів.

ІЛ-12 здатний також активувати і цитотоксичність макрофагів.

У механізмі протипухлинної дії ІЛ-12, поряд з активацією цитотоксичних клітин, заслуговує на увагу здатність його пригнічувати

ангіогенез [26]. Протиангіогенна дія ІЛ-12 реалізується на рівні рецепторів протеїназаз, адгезивних молекул, інтегринів та інших поверхневих структур, що пояснює його інгібуючий вплив на ріст пухлини . Досліди з використанням рекомбінантного ІЛ-12 показали, що він здатний запобігати метастазуванню в легені та лімфатичні вузли [19 ] .

Важливою рисою ІЛ-12 є індукція апоптозу, що пов'язано з його властивістю посилювати експресію FAS-L [21 ] .

На жаль, в літературі відсутні дані про роль цього інтерлейкіну при гліомах.

Активация цитотоксичних кілерних клітин — одна з основних дій ІЛ-15. За своїми біологічними ознаками він нагадує ІЛ-2 і багато в чому є його синергістом. Подібно до інтерлейкіну-2, ІЛ-15 посилює продукування цитокінів СК4+ лімфоцитами , цитотоксичність кілерів стосовно різноманітних пухлинних клітин , має виражений синергізм з ІЛ-2 при індукції активності ЛАК-клітин [15,18].

T.Jamaguchi et al. [16] повідомляють, що інкубація гамма-, дельта- Т-клітин, взятих у хворих з гліобластомою, в присутності ІЛ-15 проявляється не тільки активністю НК- та ЛАК-клітин але й специфічною аутологічною здатністю вбивати пухлинні клітини. Додатковий ефект спостерігається при інкубації в сумісній присутності ІЛ-15 та ІЛ-2. Ця індукована ІЛ-15 пухлинспецифічна активність може бути суттєво блокована анти-ІЛ-2R- $\gamma$  та анти-ІЛ-2R- $\beta$ , але не анти ІЛ-2R- $\alpha$ . Таким чином, на відміну від ІЛ-2, ІЛ-15 активізує пухлинспецифічні гама-, дельта- Т-клітини через компоненти ІЛ-2R- $\beta$  та ІЛ-2R- $\gamma$ , але не через ІЛ-2R- $\alpha$ . Це підвищує *in vitro* пухлинспецифічну та проліферативну відповідь гамма-, дельта- Т-клітин в присутності ІЛ-15, обґрунтовуючи раціональне ад'ювантне імунотерапевтичне використання гамма-, дельта- Т-клітин у онкологічних хворих.

Значне місце у протипухлинній відповіді займає також ІЛ-7, відомий як ростовий фактор незрілих В- і Т-лімфоцитів та зрілих Т-лімфоцитів [3 ]. ІЛ-7 генерує пухлинспецифічні Т-кілери різної локалізації , бере участь у генерації ЛАК-клітин і проявляє себе в реалізації цих ефектів як синергіст ІЛ-2 [1] .

ІЛ-7 регулює експресію гена ІЛ-2 на активованих Т-лімфоцитах і тому зниження продукування цього інтерлейкіну може негативно впливати на вироблення ІЛ-2.

Експерименти з трансфекцією генів ІЛ-7 в клітини гліоми показали, що регресія пухлини відбувається тільки за рахунок інфільтрації СК8+ лімфоцитами, ІЛ-7 виявився неефективним у безтимусних мишей та при деяких іму-

нодефіцитах. На відміну від цього трансфекція генів IL-2 та IL-4 призводила до регресії пухлини за участю як СК4+, так і СК8+ лімфоцитів.

F.Urbani et al. [28] вивчали експресію INF- $\gamma$ , гранулоцитарно-макрофагального колоніестимулюючого фактора, TNF  $\alpha$  та IL-6 на активованих лімфоцитах периферичної крові хворих з гліомою. Ними встановлено, що у таких пацієнтів спостерігається різке пригнічення секреції IL-6, TNF- $\alpha$  та особливо INF- $\gamma$  порівняно зі здоровими донорами. Зразки цитокінової мРНК на активованих IL-2 периферичних мононуклеарах пацієнтів із гліомою підтверджують порушення експресії мРНК INF- $\gamma$  паралельно з редукцією IL-6, TNF та GM-CSF відповідно до здорових осіб. Також виявлено низькі рівні експресії мРНК IL-4, IL-10 та TGF- $\beta$  в культурах периферичних мононуклеарів як у хворих з гліомою, так і в контрольній групі пацієнтів.

Опубліковано багато робіт, присвячених вивченню ролі TNF в пухлинному рості [22,23]. Основними клітинними продуцентами TNF вважаються активовані моноцити(макрофаги). У протипухлинній дії TNF слід виділити три механізми: геморагічний некроз пухлин, пряму цитотоксичну дію на пухлинні клітини і активацію протипухлинних імунних реакцій.

TNF викликає геморагічний некроз васкуляризованих пухлин з наступним їх розсмоктуванням. Слід зазначити, що некроз обумовлений складним комплексом змін кровоносних судин та залежить від ступеня васкуляризації пухлини, а регресія пухлини є імунологічним феноменом. Останнє підтверджується тим фактом, що у тварин після регресії розвивається специфічний протипухлинний імунітет, що проявляється у відторгненні повторного щеплення аналогічної пухлини. Слід додати, що TNF приводить до розсмоктування тільки високоімуногенних пухлин, у той час як некроз спостерігається і у високо-, і у низькоімуногенних неоплазмах [11].

Механізм геморагічного некрозу пов'язаний зі складними комплексними ефектами TNF, що спрямовані на порушення мікроциркуляції в капілярах пухлини, особливо неоваскуляризованих ділянок, посилення згортання крові, стимуляцію вироблення простагліну та IL-1 ендотеліальними клітинами кровоносних судин, активацію нейтрофілів. При гістологічному дослідженні в некротизованій пухлині виявляється ураження мікросудин внаслідок гіперемії та утворення великої кількості фібринових тромбів.

Обговорюючи протипухлинні ефекти TNF, важливо зазначити і той парадоксальний факт,

що, поряд з індукцією геморагічного некрозу, TNF здатний стимулювати ангиогенез у пухлині. Цей феномен може бути однією з причин посилення пухлинного росту під впливом TNF [11].

TNF здійснює безпосередню цитотоксичну дію на широкий спектр пухлинних клітин. Однак вказані ефекти надзвичайно мінливі: від повного лізису до відсутності впливу. Разом з тим, TNF не цитотоксичний по відношенню до нормальних клітин людини і тварин. Для реалізації цитотоксичної дії TNF потрібна така концентрація цитокіну, яка в 10—100 разів перевищує концентрацію *in vivo*, необхідну для індукції некрозу пухлин.

При вивченні *in vitro* кінетики цитотоксичної дії TNF виділено 3 фази: індукційну, (тривалістю 4–9 год після впливу цитокіну), загибелі клітин у цей час не спостерігається; фазу вибуху, коли загибель клітин відбувається зі швидкістю 12–14%/год, і фазу повільного лізису, що характеризується загибеллю клітин зі швидкістю 1–2%/год. Тривалість індукційної фази та процент лізованих клітин у фазі вибуху залежать від зв'язування TNF зі специфічними сайтами. В той же час швидкість загибелі клітин у фазі вибуху та фаза повільного лізису уже є TNF-незалежними. Таким чином, спостерігається зв'язок між взаємодією TNF та його рецепторами і відповідними фазами процесу лізису клітин-мішеней.

У механізмі цитотоксичної дії TNF найбільше місця відводиться активації лізосомальних ферментів. Продемонстровано участь у цитотоксичності TNF протеаз, вільних радикалів кисню та ін. [4].

Протипухлинна дія TNF також опосередкована імунорегуляторним ефектом. Так, каскад індукційних сигналів, початий TNF, зумовлює послідовне продукування IL-1, активацію T-лімфоцитів, вироблення IL-2 та, в кінцевому результаті, генерацію популяції протипухлинних ефекторних клітин — ЛАК, що лізують різноманітні пухлинні клітини-мішені. Встановлено синергізм TNF та IL-2 в індукції ЛАК-клітин, при цьому TNF посилює дію низьких концентрацій IL-2, не впливаючи на дію оптимальних доз лімфокіну. З одного боку, IL-2 підвищує специфічність зв'язування TNF з великими гранулярними лімфоцитами, з іншого боку, TNF посилює експресію Тас-антигена (маркер рецептора IL-2) на поверхні ЛАК-клітин та великих гранулярних лімфоцитів [14,23]. Останнє має надзвичайно важливе значення, тому що на поверхні цих ефекторних клітин звичайно експресується другий тип рецепторів IL-2 (p75), які разом з Тас-рецепто-

рами утворюють високоафінний комплекс. TNF сприяє індукованому IL-2 диференціюванню великих гранулярних лімфоцитів на ЛАК-клітини.

TNF посилює проліферативну відповідь у змішаній культурі лімфоцити-пухлинні клітини, являє собою ростовий фактор для Т- та В-лімфоцитів. TNF є коstimулятором стосовно продукування IFN- $\gamma$  активованими Т-клітинами [4].

TNF — одна з ефекторних молекул пухлиноцидних макрофагів, що виробляється у процесі їх активації. При цьому TNF діє як аутокринний фактор. Особлива роль в цитотоксичній дії макрофагів на пухлинні клітини відводиться мембранозв'язаній формі TNF. Існують також дані, які свідчать, що TNF виявляє цитотоксичну активність макрофага лише стосовно чутливих до TNF пухлинних ліній. Сам по собі TNF не є активуючим сигналом для макрофагів, хоча доведено, що він сприяє виробленню макрофагами цитотоксичного фактора, який, імовірно, ідентичний IL-1 [17]. При комбінації TNF з IFN- $\gamma$  спостерігається синергізм щодо індукції пухлиноцидних властивостей макрофагів. Це говорить про доцільність комбінації TNF з IFN- $\gamma$  та іншими цитокінами.

TNF сприяє індукції цитостатичної та цитотоксичної активності нейтрофілів по відношенню до пухлинних клітин. При цьому у цитостатичній дії нейтрофілів основну роль відіграє перекис водню. Для здійснення літичного впливу необхідна триваліша інкубація нейтрофілів з клітинами-мішенями (понад 24 год).

Слід зазначити, що стимульовані TNF нейтрофіли секретують більшу кількість лізоциму. TNF підвищує антитілозалежну клітинну цитотоксичність.

Противухлинна активність TNF може бути пов'язана з його участю в інгібіції процесів онкогенезу. TNF знижує експресію онкогена c-myc у пухлинних клітинах людини. IFN- $\gamma$  потенціює інгібуючу дію TNF на експресію онкогенів [30].

Наведені дані свідчать як про можливість безпосереднього впливу TNF на пухлину, так і про участь цього цитокіну у формуванні противухлинних реакцій.

А.І.Свадовським і співавторами [10] виявлено зниження продукування даного цитокіну при гліомах головного мозку, однак не встановлено кореляції між ступенем анаплазії пухлини чи її генезом (первинна чи метастатична) та ступенем цього зниження.

Ще одним цитокіном з потужною противухлинною дією є IFN- $\gamma$ .

Особливістю IFN- $\gamma$  є широкий спектр його імунотропного впливу, тому раніше його називали "імунним інтерфероном". Так, IFN- $\gamma$  ак-

тивує кальмодуліновий обмін у лімфоцитах і викликає експресію на мембранах клітин антигенів HLA-KR, за участю яких відбувається розпізнавання антигенів та наступна активація Т-лімфоцитів, у тому числі Т-хелперів, що стимулюють антитілоутворення, і Т-хелперів, стимулюючих дозрівання натуральних кілерів, а також субпопуляцій В-клітин. Комплекс KR-AG, що знаходиться на макрофагах, має вирішальне значення у запуску імунної відповіді, а тривале його перебування на мембранах клітин, як і циркуляція у кровообігу, підтримують імунну відповідь. IFN- $\gamma$  індукуює в Т-клітинах синтез IL-2 та рецепторів до нього, TNF, лімфотоксину, стимулює проліферацію В-лімфоцитів[4].

IFN бере участь у всіх імунних реакціях макрофагів та нейтрофілів, здійснюючи на них численні впливи, і є ніби фактором фагоцитів [17]. Так, він сприяє різкому підвищенню афінітету молекул адгезії, посилює міграцію та фагоцитоз макрофагів, підвищує їх цитотоксичність за рахунок стимуляції лізосомальних ферментів та вивільнення вільних форм O<sub>2</sub>, збільшуючи тим самим клінінг бактерій, паразитуючих мікроорганізмів та пухлинних клітин. У макрофагах IFN- $\gamma$  збільшує у десятки разів синтез TNF, а також продукування IL-1 та IL-6, бере участь у метаболізмі арахідонової кислоти. Ще одна унікальна властивість IFN- $\gamma$  полягає у стимуляції вироблення індоламіндеоксидази, ферменту, що має антитуморогенний вплив[1].

IFN- $\gamma$  виробляється NK- та Т-лімфоцитами. Найбільш потужними продуцентами його є Тх1. Посилення синтезу цього цитокіну відбувається за допомогою IL-1, але головним чинником його синтезу є IL-12, який виробляється макрофагами. IL-12 стимулює продукування IFN- $\gamma$  за рахунок експресії його гена та прискорення зчитування інформації з мРНК у клітинах-продуцентах. Цитокінами, які пригнічують вироблення IFN- $\gamma$ , є IL-10 та IL-4.

Необхідно підкреслити, що саме IFN- $\gamma$  належить ключова роль в активації природної цитотоксичності. Всі типи IFN стимулюють NK-клітини. IFN підвищують також літичний потенціал кілерів (збільшують вироблення літичного фактора на стадії "летального удару", і, таким чином, відіграють важливу роль у лізисі клітин-мішеней) [15].

У літературі можна зустріти поодинокі відомості про синтез IFN- $\gamma$  при гліомах. Дані F. Urbani et al. [28] свідчать про різке зниження його продукування у хворих з гліомами.

Підсумовуючи наведені вище дані про імунологічні та цитокінові розлади при гліомах, можна зробити висновок, що вони мають різно-

направлений характер. Далеко не завжди зрозуміло, в яких випадках ці розлади призводять до патології, а коли є її наслідком. З огляду на неоднозначність відповідей на ці питання існує настійна необхідність подальших пошуків вирішення проблеми, порушеної в статті.

#### Список літератури

1. *Бережная Н.М.* Иммуитет и злокачественные новообразования// Журн. АМН Украины.—1998.—№1.—С.20—31.
2. *Бережная Н.М., Горецкий Б.А.* Интерлейкин-2 и злокачественные новообразования.— Киев: Наукова думка, 1992.—С.172.
3. *Бережная Н.М., Чехун В.Ф.* Система интерлейкинов и рак.— Киев, 2000.—С.223.
4. *Возианов А.Ф., Бутенко А.К., Зак К.П.* Цитокينات. Биологические и противоопухолевые свойства.— Киев: Наукова думка, 1998.—С.313.
5. *Зозуля Ю.П., Лісяний М.І.* Нейрогенный иммунодефицит при вогнищевих ураженнях головного мозку та його клінічне значення// Журн. АМН України.—1998.—Т.4, №1.—С.44—63.
6. *Лісяний Н.І., Мамытов М.М.* Изменение иммунологических показателей у больных с опухолями головного мозга// Журн. “Вопросы нейрохирургии им Н.Н.Бурденко”.—1985.— №6.— С.43—49.
7. *Лісяний Н.І., Маркова О.В., Главацкий А.Я. и др.* Содержание FC  $\gamma$  RIII-положительных клеток в глиомах разной степени злокачественности// Иммунология. —1999.— №4.— С.56—58.
8. *Малашиха Ю.А., Ломджария Л.Д., Сигуа О.А.* Некоторые показатели состояния Т- и В-систем иммунитета при опухолях головного мозга// Иммунология .— 1981.— №2.— С.36—39.
9. *Маркова О.В.* Состояние естественной киллерной активности лимфоцитов периферической крови больных с опухолями головного мозга: Автореф. ... канд. мед. наук.— Киев, 1990.— С.18.
10. *Свадовский А.И., Бутаков А.А., Переседов В.В. и др.* Динамика параметров иммунного статуса больных с глиомами головного мозга при комбинированной терапии с использованием дрожжевого ИЛ-2// Иммунология.—1996.— № 5.—С.32—36.
11. *Суслов А.П.* Макрофаги и противоопухолевый иммунитет// Итоги науки и техники/Онкология.—1990.—Т.19.—С.167.
12. *Ashkenazi E., Keutch M., Tirosh R. et al.* A selective impairment of the IL-2 system in lymphocytes of patients with glioblastomas: increased level of soluble IL-2 R and reduced protein tyrosine phosphorylation// Neuroimmunomodulation.— 1997.— V.4.— P.49—56.
13. *Brooks W.H., Marford L., Shearer G. et al.* Potential explanation for the immunodeficiency observed in patients with gliomas. Presented at the 12<sup>th</sup> international Conference on Brain Tumor Research and Theraphy. kxford, England, 1997.
14. *Foreman N.K., Rill K.R., Constan-Smith E. et al.* Mechanism of selective killing of neuroblastoma cells and lymphokine activated killer cells. Potential for residual eradication/ / Br.J. Cancer.—1993.—V.67.—P.933—938.
15. *Fadok V.A., Bratton K., Konowai A.* Macrophages that have indested apoptosis cells in vivo inhibit proinflammatory cytokine production through autocrine /paracrine mechanism involving TGF $\beta$ , PGE $_2$ , and PAF// Clin Invest.—1998.— V.101.—P.890—898.
16. *Jamaguchi T., Suzuki Y., Katakura R. et al.* Interleukin 15 effectively potentiates the in vitro tumor-specific activity and proliferation of periferal blood gamma delta T-cells, isolated from glioblastoma patients// Cancer immunology, immunotherapy.— 1998.—V47, N 2.—P.97—103.
17. *Jovanovic K.V., Ki Battista J.A. et al.* IL-7 stimulates the production and expression of proinflammatory cytokines IL-beta and TNF-alpha by humman macrophages// J.Immunol.—1998.— V.160, N7.—P.3513—3521.
18. *Leclerq G., Kebacer V., Kesmedt M. et al.* Kifferential effects of IL-15 and IL-2 on differentiation of biopotential T-natural killer cells// J.Exp. Med.— 1996.— V.184, N2.— P.325—346.
19. *Mu J., Zou J.P., Yamamoto N.* Administration of r IL-12 prevents out-growth of tumor cells methastasizing spontaneously to lung and lymph nodes// Cancer Res.— 1995.— V.95.— P.4404—4408.
20. *Nano R., Capelli E., Civallo M. et al.* Activated lymphoid cells in human gliomas : morfofunctional and cytochemical evidence// Anticancer Reseach.— 1997.— V1.—P.107—111.
21. *khtsuki T., Micallet M.J., Kohno K. et al.* Interleukin-18 enhances Fas-ligand expression and indused apoptosis Fas-expressing human myelomonocytic KG-1 cells// Anticancer Res.— 1997.— V.17.—P.3253—3258.
22. *kppenheim J., Fujiwara H.* The role of cytokines in cancer// Cytocine Growth Factor Rev.— 1996.—V.7.—P.279—288.

23. Rea I.M., McNerlan S.E., Alexander H.K. CK69, CK25 and HLA-KR activation antigen expression on CK3+ lymphocytes and relationship to serum TN -alpha, IFN-gamma and sIL-2R levels aging//Exp. Gerontol.— 1999.—V.34, N1.—P.79—93.
24. Romagnani S. Humman TH1- TH2 subsets :” Eppur si muove “// Eur. Cyt. Network.— 1994.— V. 5.—P.7—12.
25. Salvucci K., Koeb J.P., Kugas B. et al. The induction of nitric oxide by interleukin-12 and tumor necrotic factor-alpha in human natural killer cells: relationship with the regulation of lytic activity// Blood.— 1998.— V.92, N6.—P.2093—2102.
26. Thiounn N., Pages S., Flam T. et al. IL-6 is a survival prognostic factor in renal cell carcinoma// Immunol. Lett.— 1997.— V.58.— P.121—124.
27. Tsurushima H., Liu S.Q., Tsuboi K et al. Induction of humman autologus cytotoxic T-lymphocytes against minced tissues of glioblastoma multiforme// J. Neurosurg.— 1996.— V.84.—P.258—263
28. Urbani F., Maleci A., La Sala A. et al. Keffective expression of interferon gamma, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, tumor necrosis factor alfa and interleukin 6 in activated periferal blood lymphocytes from glioma patients. Journal of interferon and cytokine research// 1995.—V.15, N5.—P.421—429.
29. Weller M., Fontana A. The failure of current immunotheraphy for malignant glioma. Tumor-derived TGF  $\beta$ , T-cell apoptosis and the immune privilege of the brain. Brain Research // 1995.— V.21, N2.—P.128—151.
30. William P. Cytocines: poking holes in the network// Nature.—1992.—V.357.—P.16—27.

Особенности иммунного и цитокінового  
статуса у больных с гліомами  
головного мозга

Лисяньї Н.И., Розуменко В.Д., Скитяк С.А

В статье изложены современные сведения об изменениях в иммунном и цитокіновом статусе у больных с гліомами головного мозга. Анализ литературы проведено с учетом топографических и гистологических особенностей опухолей. Указано, что данные расстройства при гліомах носят разнонаправленный характер. Приведены некоторые способы лечения гліом с использованием иммунотерапии.

Peculiarities of immune and cytokine status in  
patients with brain tumors

Lisiany N.I., Rozumenko V.K., Skityak S.A.

The paper reviews the last information about the disturbances of immune and cytokine status in patients with gliomas. Also the analyzed literature depends according to the localization and histopatological classification of tumors. This peculiarities have different characteristics. Some methods of immunotherapy were discussed.