

УДК 616.831—006:612.017.1

## Характеристика показників клітинної ланки імунітету при різних пухлинах головного мозку

Скітяк С.А.

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

**Ключові слова:** імунітет, гліома, менингіома, метастатичні пухлини.

**Вступ.** Вивчення впливу гліальних пухлин головного мозку на імунну систему почалося ще у 80-ті роки ХХ ст. За даними досліджень встановлене пригнічення Т-ланки імунітету у таких хворих [4, 5].

На початку 90-х років впроваджене використання моноклональних антитіл до різноманітних диференційованих антигенів лімфоцитів [6, 9]. Це дало змогу не лише встановити пригнічення Т-ланки імунітету, а й вивчити показники окремих, важливих для протипухлинної відповіді, субпопуляцій лімфоцитів — НК-клітин, активованих лімфоцитів, лімфоцитів з рецептором для апоптозу. На жаль, дані про зміни саме в цих субпопуляціях лімфоцитів, а також їх діагностичне та прогностичне значення за наявності гліоми головного мозку малочисельні або відсутні [8, 10].

Під час розгляду змін в імунній системі при гліомі головного мозку доцільне порівняння зазначених показників з такими у хворих з менингіомою — пухлиною з оболонки головного мозку та метастатичною пухлиною.

**Матеріал та методи дослідження.** Обстежені 40 хворих з гліомою головного мозку, які включені до 1-ї групи, 20 хворих з менингіомою (2-га група) та 15 пацієнтів з метастатичною пухлиною (3-я група). Імунологічні дослідження проводили до виконання оперативного втручання. В контрольну групу увійшли 20 здорових осіб, співставних за віком та статтю. Комплексну оцінку субпопуляцій лімфоцитів проводили з використанням моноклональних антитіл виробництва ЗАО «Сорбент-сервіс» (Москва) непрямым імунофлуоресцентним методом за допомогою проточного цитофлуориметра «Becton Dickinson». Досліджували кількість основних субпопуляцій лімфоцитів: СК3+ (Т-лімфоцитів), СК4+ (Т-хелперів), СК8+ (цитотоксичних Т-лімфоцитів — супресорів), СК19+ (В-лімфоцитів), СК16+ (натуральних кілерів); експресію активаційних антигенів

СК25, СК54, HLA-KR та кількість лімфоцитів, які несуть FAS-рецептор (СК95).

**Результати та обговорення.** У хворих усіх груп кількість лейкоцитів до операції не відрізнялася від показників у контрольній групі (див.таблицю). Відносна кількість лімфоцитів в периферичній крові хворих 1-ї групи була достовірно меншою, ніж у донорів та хворих інших груп, що може бути зумовлене впливом гліальної пухлини, яка вивільняє фактори, що сприяють активації апоптозу в лімфоцитах та зменшенню їх кількості в периферичній крові [14].

Аналогічно, у хворих 1-ї групи спостерігали вірогідне зменшення абсолютної кількості лімфоцитів ( $P < 0,01$ ).

У проведених нами дослідженнях не виявлене зменшення відносної кількості СК3+ лімфоцитів у периферичній крові у хворих з гліомою головного мозку, проте, з огляду на наявність лімфоцитопенії у цих хворих, абсолютна кількість СК3+ лімфоцитів була меншою, ніж у пацієнтів інших груп.

Подібні зміни спостерігали і в субпопуляції СК4+ лімфоцитів — Т-хелперів. За відсутності змін відносних показників абсолютна кількість лімфоцитів з таким фенотипом була значно менша у хворих з пухлиною головного мозку, ніж у здорових осіб ( $P < 0,01$ ). Зменшення кількості Т-лімфоцитів-хелперів у хворих усіх груп свідчить про зміни в імунній системі при пухлинному рості взагалі, та за наявності гліоми, зокрема [11, 16].

У хворих з пухлиною головного мозку до операції не виявляли зменшення відносної кількості цитотоксичних Т-лімфоцитів, проте, абсолютна кількість СК8+ у загальній групі хворих з гліальною пухлиною була значно меншою ( $P < 0,01$ ), ніж у хворих з менингіомою і метастатичною пухлиною та в контрольній групі.

Імунорегуляторний індекс у хворих усіх груп не відрізнявся від такого у контрольній групі ( $P > 0,1$ ).

Нами не виявлені суттєві зміни кількості

## Субпопуляційний склад лімфоцитів за наявності різних пухлин головного мозку

	Величина показника в групах (M ± m)			
	1-й (n=40)	2-й (n=20)	3-й (n=15)	Контрольний (n=20)
Лейкоцити, × 10 <sup>9</sup> в1л	7,76±0,82	7,82±0,81	6,16±0,55	7,34±0,83
Лімфоцити, %	31,64±3,90	20,48±2,30 *	30,13±2,44	24,40±2,35 *
× 10 <sup>9</sup> в1л	2,41±0,239	1,58±0,171*	1,85±0,191*	1,79± 0,19 *
CD3 <sup>+</sup> лімфоцити, %	65,85±7,2	60,09±6,12	65,43±2,38	56,65 ± 4,71
× 10 <sup>9</sup> в1л	1,59±0,172	0,93±0,100 *	1,21±0,112	1,01± 0,11 *
CD4 <sup>+</sup> лімфоцити, %	33,23±3,90	34,65±3,83	36,67±3,98	35,45± 3,62
× 10 <sup>9</sup> в1л	0,80±0,093	0,56±0,063 *	0,68±0,070	0,63± 0,071
CD8 <sup>+</sup> лімфоцити, %	21,50±2,01	24,17±2,95	25,53±2,85	26,15± 2,97
× 10 <sup>9</sup> в1л	0,52±0,059	0,38±0,042 *	0,47±0,040	0,50± 0,059
CD4/CD8	1,81±0,19	1,41±0,17	1,45±0,21	1,36± 0,14
CD19 <sup>+</sup> лімфоцити, %	7,80±1,04	7,39±0,82	5,43±1,45	16,70 ± 1,93 *
× 10 <sup>9</sup> в1л	0,17±0,021	0,13±0,015	0,14±0,010	0,30 ± 0,041 *
CD16 <sup>+</sup> лімфоцити, %	18,90±2,30	11,88±1,14 *	13,90±1,52 *	17,35±1,87
× 10 <sup>9</sup> в1л	0,46±0,051	0,19±0,022 *	0,26±0,020 *	0,31± 0,042
CD56 <sup>+</sup> лімфоцити, %	17,3±1,87	13,66±1,42 *	12,20±1,24 *	16,80±1,18
× 10 <sup>9</sup> в1л	0,42±0,051	0,21±0,021 *	0,22±0,23 *	0,31±0,042
CD25 <sup>+</sup> лімфоцити, %	15,3±1,71	6,20±0,71 *	6,22±0,81 *	9,70 ± 1,02 *
× 10 <sup>9</sup> в1л	0,37±0,041	0,10±0,011 *	0,12±0,011 *	0,17 ± 0,019 *
HLA-Dg <sup>+</sup> лімфоцити, %	22,5±2,40	13,13±1,42 *	12,02±1,01 *	17,07± 1,86
× 10 <sup>9</sup> в1л	0,52±0,063	0,21±0,027 *	0,22±0,026 *	0,31± 0,040 *
CD54 <sup>+</sup> лімфоцити, %	11,07±1,65	8,16±0,93	8,03±0,93	7,22 ± 0,92
× 10 <sup>9</sup> в1л	0,27±0,032	0,13±0,011 *	0,12±0,013 *	0,13 ± 0,015 *
CD95 <sup>+</sup> лімфоцити, %	3,20±0,43	9,13±0,98 *	7,60±0,94 *	4,55±0,62
× 10 <sup>9</sup> в1л	0,08±0,001	0,11±0,015 *	0,13±0,012 *	0,08±0,001

Примітка. \*— різниця показників вірогідна у порівнянні з такими у контрольній групі

СК19<sup>+</sup> лімфоцитів (В-лімфоцитів) у хворих з гліомою та менінгіомою. Зазначені дані підтверджуються даними інших дослідників про те, що основні зміни в імунній системі при гліомі спостерігають переважно у Т-ланці імунітету при відносно автономній цілісності її В-ланки [2]. У хворих з метастатичною пухлиною головного мозку кількість В-лімфоцитів в периферичній крові була значно більша, ніж у хворих з гліомою та менінгіомою, що може бути зумовлене системним впливом первинної пухлини, локалізованої поза головним мозком, на імунну систему.

Важливу роль у боротьбі організму з пухлиною відіграють НК-клітини. Їх вміст вивчали шляхом визначення кількості лімфоцитів з фенотипом СК16<sup>+</sup> та СК56<sup>+</sup>. Зменшення кількості СК16<sup>+</sup> лімфоцитів було характерним для пацієнтів 1-ї та 2-ї груп. Ця ознака є характер-

ною рисою імунної відповіді на пухлинний ріст, коли імунна система вже неспроможна його стримувати [1]. У хворих з метастатичною пухлиною головного мозку не спостерігали зменшення кількості СК16<sup>+</sup> лімфоцитів. Вміст СК56<sup>+</sup> лімфоцитів (НК-клітин, які несуть молекулу нейрональної адгезії NCAM) також був менше, ніж у здорових осіб. При малігнізації клітин мозку спостерігають порушення експресії NCAM та L-1 на поверхні клітин та зміни вуглеводної та білкової структури молекул [7]. Можливо, зазначені порушення експресії NCAM відбуваються і на лімфоцитах хворих з гліомою, що зумовлює зменшення кількості клітин з фенотипом СК56<sup>+</sup> в периферичній крові.

Важливе значення для прогнозу захворювання у пацієнтів з гліомою має кількість активованих Т-лімфоцитів (СК25<sup>+</sup> та HLA-КР<sup>+</sup>).

Вміст СК25<sup>+</sup> лімфоцитів у хворих 1-ї та 2-

ї груп вірогідно не різнився і був майже у 2 рази менше від такого у контрольній групі ( $P < 0,1$ ). Неможливість лімфоцитів генерувати інтерлейкін-2 (ІЛ-2) або експресувати рецептори ІЛ-2 може бути пов'язана з дефектами на ранніх етапах передавання трансмембранного сигналу після стимуляції Т-клітинного рецептора ТСР/СКЗ [12]. В той же час, свій внесок у пригнічення активації та проліферації лімфоцитів вносять розчинні імуносупресивні чинники, які виробляє гліома, а саме TGF та ППЕ<sub>2</sub> [13].

Вміст СК25<sup>+</sup> лімфоцитів у хворих з метастатичною пухлиною головного мозку був вірогідно більшим, ніж у хворих 1-ї та 2-ї груп, проте, був меншим, ніж у контрольній групі.

Експресія лімфоцитами хворих з гліомою та менінгіомою HLA-KR-антигену була низькою.

Кількість лімфоцитів, що експресують молекулу адгезії ICAM-1, у хворих усіх груп була знижена.

В лімфоцитах хворих з пухлиною головного мозку спостерігали посилення апоптичних процесів. У хворих з гліомою спостерігали високий вміст СК95<sup>+</sup> лімфоцитів, тобто тих, які мають на своїй поверхні FASR та гинуть через зв'язування з FASL, що може бути зумовлене тим, що в лімфоцитах цих хворих виявлені генетичні зміни у вигляді переважної експресії проапоптичних генів BAX над антиапоптичними BCL-2 та BCL-X [15] та, можливо, тривалою рециркуляцією в крові продуктів гліоми — TGFβ та простагландину E<sub>2</sub>.

У хворих з менінгіомою вміст СК95<sup>+</sup> лімфоцитів теж перевищував такий у контрольній групі ( $P < 0,01$ ). Найменша відносна кількість СК95<sup>+</sup> лімфоцитів відзначена у хворих з метастатичною пухлиною головного мозку.

Цей результат залежить від двох причин: по-перше, гліома вивільняє TGFβ, який справляє інгібуючий вплив на імунну систему та зумовлює апоптоз Т-лімфоцитів [11]; по-друге, усім пацієнтам призначали глюкокортикоїдні гормони, які мають проапоптогенну дію [3].

#### Висновки

1. Для хворих з пухлиною головного мозку характерне посилення апоптичних процесів в лімфоцитах та порушення перебігу в них активаційних процесів, за відсутності суттєвих змін в системі диференціювання лімфоцитів в основні популяції та субпопуляції (за виключенням НК-клітин).

2. У хворих з гліомою виявляють зміни в системі генерації лімфоцитів та їх диференціювання в НК-клітини без грубих порушень в системі Т-лімфоцитів та основних імунорегуляторних субпопуляцій. Також характерне значне пригнічення процесів активації лімфоцитів, особливо за участю компонентів рецептора ІЛ-2 та посилення апоптозу лімфоїдних клітин.

3. У хворих з менінгіомою виявлені розлади в системі генерації лімфоцитів та їх диференціювання. Проте, відзначений супресивний вплив пухлини на процеси диференціювання лімфоцитів в НК-клітини, та значно пригнічена активація лімфоцитів як за участю α-ланцюга рецептора ІЛ-2, так і HLA-KR антигену. Посилений процес запрограмованої загибелі лімфоцитів, хоча і менш виражено.

4. У хворих з метастатичною пухлиною порушення процесів утворення лімфоцитів мало виражене, визначають збереження процесів їх диференціювання в Т-, Т-хелпери, Т-цитотоксичні, а також НК-клітини. Наявний активуючий вплив на генерацію β-лімфоцитів в периферичній крові. Порушення в системі активації лімфоцитів визначаються при залученні в цей процес α-ланцюга рецептора ІЛ-2.

#### Список літератури

1. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология: Учебное пособие. — Одесса : Астропринт, 1998. — 604 с.
2. Зозуля Ю.П., Лісяний М.І. Нейрогенний імунодефіцит при вогнищевих ураженнях головного мозку та його клінічне значення // Журн. АМН України. — 1998. — Т.4, №1. — С.44—63
3. Ковальчук Л.В., Чередеев А.Н. Апоптогенные механизмы возникновения иммунодефицитных заболеваний // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. — 1999. — №5. — С.47—52
4. Лісяний Н.И., Мамытов М.М. Изменение иммунологических показателей у больных с опухолями головного мозга // Вопр. нейрохирургии. — 1985. — №6. — С.43—46.
5. 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
6. Сидоренко С.П. Поверхностные антигены клеток человека, систематизированные международными рабочими совещаниями по дифференцировочным антигенам лейкоцитов человека // Иммунология та алергологія. — 1998. — №3. — С.16—38.
7. Шепелева И.И., Чехонин В.П. Нейрональные молекулы клеточной адгезии (структура, функции, клинико-диагностические перспективы) // Журн.

- неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова. — 1996. — №5. — С.113—118
8. *Ashkenazi E., Keutsch 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, N 1. — P.49—56.
  9. *Bentley G.A., Mariuzza R.A.* The structure of the T-cell antigen receptor // *Ann. Rev. Immunology.* — 1996. — V.15. — P.563—590.
  10. *Lenartz K., Stoffel B., Mensel J.* et al Immunoprotective activity of the galactoside-specific lectin from mistletoe after tumor destructive therapy in glioma patients // *Anticancer Res.* — 1996. — V. 16, N 6. — P. 3799—3802.
  11. *Matsushita T.* Subset analysis of tumor infiltrating lymphocytes and peripheral blood lymphocytes in malignant glioma patients // *Brain and Nerve.* — 1995. — V. 45, N 5. — P.466—473.
  12. *Morford L.A., Elliot Lh., Carlson S.L.* et al T-cell receptor signaling is defective in T-cells obtained from patients with primary intracranial tumors // *J. Immunol.* — 1997. — V.159, N 9. — P. 4415—4425.
  13. *Parney I.F., Farr-Jones M.A., Chang L.J.* Human glioma immunobiology in vitro: implications for immunogene therapy // *Neurosurgery.* — 2000. — V.46, N 5. — P.1169—1177.
  14. *Weller M., Fontana A.* The failure of current immunotherapy for malignant glioma. Tumor-derived TGF beta, T—cell apoptosis and the immune privilege of the brain // *Brain Res.* — 1995. — V.21, N 2. — P.128—151.
  15. *Zipp F., Martin R., Lichtenfels R.* et al Human auto-reactive and foreign-specific T-cell resist apoptosis induced by soluble recombinant CK95 ligand // *J. Immunol.* — 1997. — V.159, N 5. — P.2108—2115.
  16. *Zou J.P., Morford L.A., Chougnnet C.* et al Apoptotic elimination of peripheral T-lymphocytes in patients with primary intracranial tumors // *J. Neurosurg.* — 1999. — V.162. — P. 935—946.

#### Характеристика показателей клеточного звена иммунитета при разных опухолях головного мозга

Скитяк С.А.

Исследованы изменения различных субпопуляций лимфоцитов (Т-, В-лимфоцитов, хелперов, цитотоксических лимфоцитов-супрессоров, натуральных киллеров, активированных и апоптических лимфоцитов) у больных с глиомой, менингиомой и метастатической опухолью головного мозга. Установлено, что каждая опухоль имеет особенности влияния на клеточное звено иммунитета, причем при наличии глиомы эти изменения наиболее выражены, что обуславливает тяжесть течения заболевания.

#### The characteristic of cell immunity indexes in different brain tumors

Skityak S.A.

The different lymphocytic subpopulations (T-, B-cells, helpers, cytotoxic lymphocytes, natural killers, apoptotic and activated lymphocytes) were examined in patients with glioma, meningioma and metastatic tumor. It was determined, that each tumor has its own specific cell immune peculiarities. Glioma have the great influence on the different lymphocytic subsets.

## КОМЕНТАР

до статті Скитяк С.А. «Характеристика показників клітинної ланки імунітету при різних пухлинах головного мозку»

На сьогоднішній день практично всі наукові розробки, які присвячені вивченню стану механізмів протипухлинної резистентності, є надзвичайно актуальними. Це в повній мірі стосується і пухлин головного мозку, при яких спектр імунологічних взаємодій та впливів є найменш вивченим. Все це дозволяє вважати дану роботу актуальною.

Наукова новизна даної роботи полягає в комплексному вивченні не тільки основних фенотипових характеристик лімфоцитів, але й у визначенні активаційних процесів та наявності експресії антигенів апоптозу у хворих як на глиоми, так і на метастатичні пухлини та менингіоми. Така комплексна оцінка дозволяє виділити окремі специфічні саме для гліом ознаки порушень в клітинній ланці імунітету, яка є основою в протипухлинному захисті організму.

Результати даного дослідження можуть бути використані і в клінічній практиці як складова частина комплексного обстеження хворих на пухлини головного мозку з метою диференціальної діагностики та прогнозу перебігу захворювання.

Автором представлений аналіз комплексного імунологічного обстеження великого матеріалу — 40 хворих на глиоми, 20 — на менингіоми та 15 — на метастатичні пухлини.

Табличний матеріал адекватно ілюструє наведені в статті дані. В переліку літературних посилань наведені новітні дані.

Висновки, зроблені автором, повністю відображають отримані дані.

Доктор мед. наук, проф. Бордонос В.Г.  
Зав. відділом експериментальної та клінічної імунології  
Науково-дослідного центру Національного медичного університету  
ім. О.О. Богомольця