

10. UVB-induced production of 1,25(OH)₂D₃ production and vitamin D activity in human keratinocytes pretreated with a sterol delta 7 reductase inhibitor / Vantieghem K., Kissmeyer A.M., De Haes P. [et al.] // J. Cell. Biochem. – 2006. – Vol. 98. – P. 81 – 92.

РЕЗЮМЕ

РОЛЬ ВІТАМІН Д НЕДОСТАТНОСТІ/ДЕФІЦИТУ У ФОРМУВАННІ ДИСБАЛАНСУ ЦИТОКІНОВОГО ГОМЕОСТАЗУ У ХВОРИХ НА ПСОРИАЗ В ОСІННЬО-ЗИМОВИЙ ПЕРІОД

Е.Ю. Бекірова

У жителів Кримського регіону, які страждають на псоріаз, вивчена динаміка рівня прозапального цитокіну IL-1 β в залежності від вмісту 25 (OH) D₃ в сироватці крові в осінньо-зимовий період (жовтень-лютий). Встановлено, що D-недостаточність/дефіцит у хворих на псоріаз в осінньо-зимовий період

(жовтень-лютий) пов'язана з зростання рівня прозапального цитокіну IL-1 β .

Ключові слова: дефіцит вітаміну D, цитокіни, псоріаз.

SUMMARY

THE ROLE OF VITAMIN D INSUFFICIENCY/ DEFICIENCY IN THE FORMATION OF AN IMBALANCE OF CYTOKINE HOMEOSTASIS IN PATIENTS WITH PSORIASIS IN THE AUTUMN-WINTER PERIOD

E.Yu. Bekirova

There was studied the dynamics of the pro-inflammatory cytokine IL-1 β in psoriasis patients (inhabitants of the Crimean region), depending on the content of vitamin 25 (OH) D₃ in the serum in the autumn-winter period (October-February). There was found that patients with psoriasis and D insufficiency/deficiency in the autumn-winter period (October-February) is associated with increasing levels of pro-inflammatory cytokine IL-1 β .

Keywords: vitamin D, cytokines, psoriasis.

УДК:612.112.94:616.831- 006.482

СОДЕРЖАНИЕ ОПУХОЛЬ-ИНФИЛЬТРИРУЮЩИХ МОНОНУКЛЕАРОВ В МЕДУЛЛОБЛАСТОМНЫХ ОПУХОЛЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА

ЛИСЯНЫЙ А.Н. ГОЛЯРНИК Н.В. ПОТАПОВА А.И.

ГУ «Институт нейрохирургии НАМН Украины»

Опухоли головного мозга являются достаточно широкой группой заболевания, которая наблюдается у лиц различного возраста и протекает с не всегда благополучным исходом и прогнозом. Наиболее злокачественные среди них это глиомы 3-4 степени анаплазии и медуллобластомы, которые характеризуются инфильтративным ростом, короткой ремиссией и резистентностью к химио и радиотерапии (1). Существующая классификация этих заболеваний, основанная на классических гистологических исследованиях, уже не полностью отражает потребности клиники, связанные с прогнозированием исходов заболевания, выбором адекватной эффективной методики комбинированного лечения (1,2).

Важным обстоятельством в судьбе любой опухоли, как известно является ее взаимоотношение с иммунной системой организма, с реакциями противоопухолевого иммунитета, и особенно с опухольинфильтрирующими лимфоцитами, которые, как показывают многие исследования являются ведущими в осуществлении противоопухолевой защиты (2,3,4,5,). Если об иммунных процессах при глиобластомах имеется обширная литература и ведутся большие многолетние исследования (5,6,7), то взаимоотношениям медуллобластом и иммунной си-

стемы уделялось меньше внимания. В этой связи в наших исследованиях изучали содержание опухольинфильтрирующих лимфоидных клеток в медуллобластомах различного возраста и сопоставляли их с содержанием подобных клеток в астроглиальных опухолях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании использована опухолевая ткань, удаленная во время нейрохирургических операций у 37 больных с медуллобластомами и 12 больных с астроцитомами I–III степени анаплазии. Из опухолевого материала удаленного во время операции, выделяли небольшие кусочки, размером до 0,5 см³, которые помещали в питательную среду 199. Клеточную взвесь из опухоли готовили общепринятым методом (2,7). Опухолевую ткань подвергали измельчению с помощью ножниц в питательной среде 199, с последующим фильтрованием через нейлоновый фильтр. Отделенную путем фильтрования суспензию клеток опухоли от клеточного детрита и соединительной ткани 2 раза отмывали от тканевых остатков путем центрифугирования при 1000 об/мин в течение 5-7 минут. Отмытую взвесь опухолевых клеток суспендировали в 2,0 мл среды 199 и проводили определение количества клеток общепринятым методом в камере Горяева с 3%

уксусной кислотой, а также подсчет процента живоспособных клеток с помощью 0,1% раствора трипанового синего. Если количество живых клеток составляло более 70%, эти клетки использовались в дальнейших исследованиях, если же количество живых клеток было меньше, то такие клеточные суспензии исключали из опытов.

В работе была использована панель из 4 типов моноклональных антител, Это следующие моноклональные антитела: CD-3, CD-45, которые выявляют антигены экспрессированные на лейкоцитах (CD-45) и Т лимфоцитах (CD-3), CD-34 – антитела, выявляющие гемопоэтические стволовые клетки; CD-38-антитела выявляют трансмембранный гликопротеид с аденилат-циклазной активностью который экспрессируется на многих клетках, находящихся в состоянии активации, Все моноклональные антитела были производства фирмы «Сорбент» (Россия) Института иммунологии РАМН. Постановку реакции с моноклональными антителами и клетками опухоли проводили согласно рекомендаций фирмы с учетом методических рекомендаций Института иммунологии (2001 г.) (8). Сущность постановки реакции заключалась в следующем: 100 мкл взвеси опухолевых клеток, содержащих 2×10^6 клеток в 1 мл смешивали с 100 мкл определенных моноклональных антител и инкубировали в течение 0,5 часа в термостате. Затем 1 раз пробирки с клетками центрифугировали при 1000 об/мин в течение 5 минут, отделяли надосадочную жидкость и к осадку добавляли 100 мкл вторичных антител, меченных флуоресцеином и повторно инкубировали 30 минут в термостате. Затем клетки отмывали 1 раз средой 199 путем центрифугирования и взвесь клеток стабилизировали 0,4% раствора

формалина. Пробирки с клетками хранили 2-3 дня в холодильнике и проводили подсчет меченных соответствующими антителами клеток на проточном лазерном цитофлуориметре Fasc Calibur (Becton Discanson).

Статистическую обработку материала проводили по пакету программы статобработки Statistica для ПК с определением $M \pm m$. Достоверность результатов определяли по критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Содержание опухолинфильтрирующих лейкоцитов и лимфоцитов в разных опухолях показано в табл. №1, из которой видно, что обе группы больных примерно одного возраста $11,3 \pm 1,65$ г. у пациентов с медуллобластомами и $7,15 \pm 0,85$ лет в группе с глиальными опухолями, то есть это преимущественно опухоли детского возраста. Содержание CD-45⁺ клеток было несколько больше в глиальных, опухолях, чем в медуллобластомах, но различия показателей статистически не достоверны ($p > 0,05$). Как известно CD -45⁺ молекула экспрессируется на всех миелоидных клетках и является общим их маркером, следовательно можно сделать заключение, что в обоих типах опухолей содержится достаточно много миелоидных клеток примерно каждая десятая клетка содержит CD-45 молекулу. Это достаточно большое количество клеток с иммунными функциями и которые должны тем или иным способом взаимодействовать с опухолью и участвовать реакциях противоопухолевого иммунитета. В этих реакциях важное значение отводится Т-лимфоцитам, которые обладают различными цитотоксическими функциями и способны убивать опухолевые клетки, а также синтезировать цитокины.

Таблица 1

Содержание CD-45⁺, CD-3⁺ и CD-34⁺ клеток в медуллобластомах и глиомах головного мозга (в %)

	Возраст больных	CD-45	CD-3	CD-34
медуллобластома	$11,3 \pm 1,69$	$11,41 \pm 3,35$	$6,3 \pm 1,27$	$3,33 \pm 0,72$
Глиальные оп-ли	$7,15 \pm 0,85$	$16,71 \pm 2,8$	$7,8 \pm 1,62$	$6,95 \pm 0,8^*$

*- достоверные различия между группами ($p < 0,05$)

Проведенными исследованиями установлено, что в обоих типах опухолей содержалось одинаковое количество опухолинфильтрирующих Т-лимфоцитов, около 7% от общего количества клеток, – это свидетельствует о том, что Т лимфоциты являются основной популяцией лимфоидных клеток которая накапливается в данных опухолях, функциональная активность Т-лимфоцитов инфильтрирующих эти опухоли может быть разной и как указывают многочисленные данные литературы противоопухолевый их потенциал снижен более того среди них мо-

гут быть Т-регуляторные супрессорные клетки угнетающие иммунные реакции, чем выше степень злокачественности тем больший уровень иммуносупрессивных Т- рег. лимфоцитов (2,5,6). По-видимому для полноценного проявления реакций иммунитета такое малое содержание Т-лимфоцитов в опухоли недостаточно, что объясняет причины неэффективности иммунной противоопухолевой защиты.

Изучение содержания CD-34⁺клеток в опухолях показало, что глиальные опухоли содержат в 2 раза больше гемопоэтических клеток чем ме-

дуллобластомы ($P<0,05$). В обоих типах опухолей имеет место накопление гемопоэтических CD-34⁺ клеток, которые в норме отсутствуют в периферической крови, что объясняется последними данными литературы об участии этих клеток в ангиогенезе сосудов опухолей. В то же время в глиальных опухолях их больше чем в медуллобластомах, что соответствует данным о том, что степень васкуляризации и проницаемость опухолевых капилляров значительно выше в глиомах, чем в медуллобластомах и по этой причине содержание гематогенных клеток в них выше.

При разделении больных с медуллобластомами в зависимости от возраста были сформированы 3 группы больных (таблица 2). Первая – 8 больных, дети от 1 года до 5 лет. Вторая группа – 14 человек, от 6 до 14 лет. Третья группа – 9 человек, от 15 до 43 лет.

При исследовании содержания различных субпопуляций лимфоидных клеток в этих трёх группах пациентов из медуллобластомами было установлено, что CD-45 клетки выявлялись в опухолях в разных концентрациях. Так наибольший уровень их был в средней возрастной группе и составлял 17%, тогда как младшей группе детей и у взрослых было соответственно в 5 и 3 раза меньше CD-45⁺ клеток ($P<0,05$).

При изучении содержания в медуллобластомах опухолинфильтрирующих Т лимфоцитов оказалось, что наименьший уровень Т клеток определялся в группе взрослых больных $4,32\pm2,9\%$, несколько больше было в группе детей от 1 года – $5,52\pm1,59\%$. Наибольший уровень Т лимфоцитов был в группе больных 6-14-летнего возраста, он равнялся $7,49\pm2,02\%$, что в 2 раза выше, чем в группе взрослых пациентов, между этими группами

имелись статистически достоверные различия. Медуллобластомы взрослых содержали в 2 раза меньше гемопоэтических клеток, чем медуллобластомы детских групп. В опухолях взрослых пациентов содержалось достоверно меньше примеси лейкоцитарных, лимфоцитарных и гемопоэтических клеток. Причины такого различия пока что не ясны. Возможно, у медуллобластом лиц старшего возраста менее проницаемая сосудистая сеть и инфильтрация опухоли клетками крови происходит меньше. Хотя возможно и другое объяснение, что опухоли взрослых обладают более высоким супрессивным потенциалом и не допускают в опухоль лейкоцитов и лимфоцитов. Содержание клеток, экспрессируемых CD-38 молекулу представляющую собой бифункциональный гликопротеид с адинилатциклазной активностью в опухолях было примерно одинаковым, различия между показателями статистически не достоверны, хотя у младшей детской группе содержание CD-38⁺ клеток было несколько выше и равнялось $21,18\pm8,16\%$, тогда как во взрослой группе пациентов – $13,6\pm5,8\%$. Известно, что CD-38 молекула относится к активационным молекулам и может экспрессироваться не только на иммунных но и на других клетках (9,10). В наших исследованиях установлено, что уровень CD-38 клеток в опухолях в был значительно выше чем содержание лимфоидных клеток и следовательно эта молекула могла экспрессироваться как на клетках опухолей так и клетках опухолевых сосудов. По видимому по этой причине трудно судить об экспрессии этой молекулы на опухолинфильтрирующих лимфоидных клетках, так как суммарное содержание клеток, экспрессирующих эту молекулу, выше уровня лимфоидных клеток.

Таблица 2

Содержание различных субпопуляций лимфоидных клеток в медуллобластомах больных различного возраста

Возраст больных	Процентное содержание мононуклеаров в медуллобластомах			
	CD- 45	CD- 3	CD- 34	CD -38
1 - 5 лет $3,07\pm1,59$ n-8	$2,28\pm0,5$	$5,52\pm1,59$	$4,22\pm2,62$	$21,18\pm8,06$
6 - 14 лет $8,8\pm0,4$ n-14	$16,8\pm9,07^*$	$7,49\pm2,02$	$5,26\pm1,4$	$17,7\pm4,31$
15 - 40 лет $21,25\pm3,72$ n-9	$5,80\pm2,8$	$4,05\pm2,9$	$2,29\pm,71^*$	$13,6\pm5,89$

* - достоверные различия между группами ($P<0,05$).

Проведенные исследования показали, что содержание опухолинфильтрирующих лимфоидных клеток зависит как от типа опухоли так и возраста больных. В глиальных опухолях содер-

жится большее количество гемопоэтических клеток чем в медуллобластомах, тогда как содержание Т лимфоцитов в этих опухолях одинаковое. Возможно это связано с тем, что злока-

чественные опухоли активно используют гемопоэтические клетки как для нового ангиогенеза в опухоли так они способны трансформироваться в другие типы клеток и своими гуморальными факторами стимулировать рост опухоли (11-14). Считается, что наличие в опухоли CD-34 клеток является не благоприятным прогностическим признаком (12-14). В тоже время малое содержание Т лимфоцитов опухоли является также плохим прогностическим признаком так как их недостаточно для полноценного иммунного противоопухолевого процесса (2,4) и это есть следствием возможного иммуносупрессивного действия опухолевых клеток на Т лимфоциты, хотя могут быть и другие причины. Содержание в опухолях Т лимфоцитов практически не зависело от возраста больных хотя в группе взрослых пациентов уровень их был в самый низкий почти в 2 раза ниже чем у детей средней группы. Анализируя содержание CD-45 клеток в опухолях в зависимости от возраста обращает на себя внимание факт низкого содержания этих клеток у детей раннего возраста по сравнению с детьми 6-14 лет, имеется 8 кратное различие в показателях, что трудно объяснить и лишь можно предположить, что в этой группе детей до 5 лет с быстро растущими опухолями, не успевают накопиться эти клетки. У взрослых пациентов также содержится низкое содержание как CD-45 так и особенно CD-34 клеток, что указывает на отличие медуллобластом взрослых от медуллобластом детей. Возможно, в опухолях этих больных иммунные процессы отличаются от опухолей детского возраста или они имеют более медленный темп развития и протекают без существенного привлечения лимфоидных и в том числе и гемопоэтических клеток в опухолевый очаг.

Таким образом в злокачественных опухолях головного мозга имеются различия в содержании опухолинфильтрирующих лимфоидных клеток, которое зависит как от вида опухоли так и возраста больных, что необходимо учитывать при изучении причин их злокачественности.

ВЫВОДЫ

1. В злокачественных глиальных опухолях и медуллобластомах головного мозга содержится 10-15% опухоль инфильтрирующих лимфоидных клеток, экспрессирующих панлейкоцитарную CD-45 молекулу.
2. В медуллобластомах содержится в 2 раза меньше чем в глиомах гемопоэтических стволовых клеток, содержащих CD-34 молекулу, что свидетельствует о различном их участии в онкогенезе этих опухолей.
3. Содержание в медуллобластомах лимфоидных клеток содержащих CD-45 молекулу, за-

висит от возраста больных, наименьшее их количество до 3% было в опухолях детей до 5 лет, наибольший их уровень до 16,8 % содержался в средней группе детей 6-14 возраста, а у взрослых больных содержание таких клеток было не большое и оно равнялось 5,8% от общего числа клеток.

4. Уровень Т-лимфоцитов в опухолях практически не зависел от возраста больных и составлял 4-8% клеток, что может свидетельствовать как о недостаточности местных противоопухолевых иммунных процессов, так и одинаковым иммуносупрессивным воздействием медуллобластом на Т клеточное звено иммунитета.
5. Активационная молекула CD-38 экспрессируется не только на лимфоидных клетках, но и на других клетках, находящихся в опухолевом узле, вероятно на клетках опухолевых сосудов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зозуля Ю. А. Глиомы головного мозга / [Зозуля Ю. А. Васильева И.Г.и др.]– Киев, 2007. – 705 с.
2. Лисяний Н. И. Иммунология и иммунотерапия злокачественных глиом головного мозга. / Н.И. Лисяний.– Киев, 2011.– 239с.
3. Бережная Н.М. Система интерлейкинов и рак/ Н.М.Бережная и В.Ф.Чехун. Киев: Диа, 2000.– 224 с.
4. Бережная Н.М., Чехун В.Ф. Иммунология злокачественного роста. / Н.М. Бережная. и В.Ф. Чехун.– Киев.: Наукова думка, 2005.– 791с.
5. Бельская Л. Н. Роль Т –регуляторных клеток в противоопухолевом иммунном ответе при глиомах головного мозга. /Л.Н. Бельская, Н.И.Лисяний.// Иммунология и иммунотерапия злокачественных глиом головного мозга.– Киев, – 2011.– С.140-160
6. Рыбальченко А.Ю. Местные иммунные реакции в злокачественных глиомах головного мозга. / А.Ю Рыбальченко./ Иммунология и иммунотерапия злокачественных глиом головного мозга.– Киев. – 2011. – С.120-139.
7. Гнедкова И.А. Изменение в регуляторном звене иммуногенеза у нейроонкологических больных и их клиническое значение. Дис. Канд. Мед наук. –К. 1991. – 189 с.
8. Применение проточной цитометрии для оценки функциональной активности иммунной системы человека/[Б.В Пинегин. А.А Ярилин.. А.В Симонова. и др.]– Москва – 2001. – 52 с.
9. Regulation of CD-38 expression on function by steroid Hormones in myometrium/[Dogan S. Despaule D. White T. et al.] // Moll. cell endocrine. –2006.– 246(1-2) – p. 101-106.

10. Differential upregulation of CD-38 on different T cell subsets. / [Benito J. Liopes M. Lorano S.] // J. Acquir Immune Defic Syndr. – 2005. – 384. – p. 378-381.
11. Hematopoietic stem cell give rise to perivascular endothelial-like cells during brain tumor angiogenesis. / [Ubani V. Santarelli J. Yung Y. et al] // Stem Cell Dev. – 2005. – 145. – p. 478-486.
12. Identification of phenotypic neural stem cells in pediatric astrocytomas. / [Huhn J Yung Y. Cheshier S et al] // J. neurosurg. – 2005. – 103 (5) – p. 446-450.
13. Differentiation of human adult CD-34 stem cells in to cells with a neural phenotype. / [Reall C. Cintu F. Pillai R. et al] // Exp. Neurol. – 2006. – 197 (2) – p. 399-406.
14. Hematopoietic progenitors express neural genes / [Gobsby J. Heltz D. et al.] // Proc Natl Acad Sci. – 2003. – 100 (25) – p. 14921-14931.

РЕЗЮМЕ

СОДЕРЖАНИЕ ОПУХОЛЬИНФИЛЬТРИРУЮЩИХ МОНОНУКЛЕАРОВ В МЕДУЛЛОБЛАСТОМНЫХ ОПУХОЛЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Лисяний А.Н., Голяриник Н.В., Потапова А.И.

ГУ «Институт нейрохирургии им. Акад. А.П.Ромоданова
НАМН Украины

В статье проведены данные о содержании CD-45, CD-3, CD-34, CD-38 клеток в глиальных и медулло-

бластомных опухолях головного мозга. Установлено, что в этих опухолях содержится 10-15 % CD45 клеток, 4-7 % Т-лимфоцитов и CD – 34 клеток. В медуллобластомах содержалось в 2 раза меньше CD-34 клеток, чем в глиомах. Медуллобластомы взрослых пациентов имеют более низкое содержание опухолинфильтрующих лимфоидных и гемопоэтических клеток чем опухоли детей.

SUMMARY

THE PRESENCE TUMOR-INFILTRATE MONONUCLEARS IN MEDULLOBLASTOMA TUMORS OF BRAIN

Lisany A.N., Golyarnik N.V., Potapova A.I.

Si «Acad A.P. Romodanov Institute of Neurosurgery
Acad Mtd. Sci. of Ukraine» Kyiv

There is a data about presence CD-45, CD-3, CD-34, CD-38 cells in gliomas and medulloblastomas at the article. It is established that, these tumors contain 10-15% CD45 cells, 4-7 % T-lymphocytes and CD – 34 cells. Medulloblastomas contained twice less CD-34 cells than gliomas. Medulloblastomas in adult patients have lower level of tumor-infiltrate mononuclears and hemopoietic cells than the tumors of children.

УДК 616.211-02-056.3-036.1-06:616.99]-02:612.112.92:547.96

РОЛЬ ЭОЗИНОФИЛЬНОГО КАТИОННОГО БЕЛКА В ФОРМИРОВАНИИ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО РИНИТА ПРИ ПАРАЗИТОЗЕ

КУЗНЕЦОВА Л.В., БОНДАРЕНКО Т.Н., ЛИТУС В.И., НАЗАРЕНКО А.П., ЮРКИНА А.В.,
НАЗАР О.В., НАЗАРЕНКО Г.И., КУЗНЕЦОВ А.Г.

Национальная медицинская академия последипломного образования
имени П.Л.Шупика

В течении последних 10 - 15 лет в Европейских странах и на Украине частота аллергического ринита (сезонного и круглогодичного) увеличилась до 20% заболеваемости населения. Качество жизни больных аллергическим ринитом (особенно круглогодичным) может быть хуже, чем у больных легкой и даже средней тяжестью бронхиальной астмы. Тяжесть течения аллергического ринита зависит от состояния специфического и неспецифического иммунитета организма человека. Известно, что при течении аллергологических заболеваний огромное значение имеют наложение сопутствующих заболеваний и синдромов, наличие которых утяжеляет течение основного патологического процесса и является дополнительным источником дисфункции иммунной

системы [2, 4, 5, 6, 10, 13]. Доказано, что в 45% случаев аллергический ринит сопровождается паразитарными заболеваниями [1, 3, 7, 12]. Иммунология гельминтозов – это сравнительно новое научное направление, становление и развитие которого началось сорок лет тому назад. Постепенно накапливаются сведения о механизмах противогельминтного иммунитета, определяются возможности практического применения иммунологических методов в профилактике и борьбе с гельминтозами [3, 7, 10]. Иммунный ответ при гельминтозах, так же как при бактериальных и вирусных инфекциях, представляет собой цепь дифференцировок иммунокомпетентных клеток организма человека под влиянием антигенов, выделяемых паразитом.