

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013  
*А.Н. Лисяный, Л.А. Кот, Н.А. Голярник,  
А.И. Потапова*

## ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕДУЛЛОБЛАСТОМ ГУ «Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова НАМН Украины», г.Киев

**Вступление.** Фенотипические отличия медуллобластом у детей и взрослых свидетельствуют о существенном отличие в природе этих опухолей и указывают на разные механизмы их развития.

**Цель.** Изучить фенотипические характеристики медуллобластом детского и взрослого возраста.

**Материалы и методы.** В статье приведены данные исследования клеток 37 образцов медуллобластом с помощью моноклональных антител против функционально важных клеточных маркеров.

**Результаты.** Установлены отличия между медуллобластомами детей и взрослых пациентов, а именно в опухолях взрослых определяется сниженное содержание клеток, экспрессирующих нейрональную молекулу NCAM, низкое содержание клеток, имеющих Fas-рецептор апоптоза и повышенный уровень онкосупрессорного протеина P-53. В медуллобластомах детей в 2 раза выше содержание гематопоэтических клеток CD-34+. фенотипические отличия медуллобластом у детей и взрослых свидетельствуют о существенном отличие в природе этих опухолей и указывают на разные механизмы их развития.

**Ключевые слова:** медуллобластома, Fas-рецептор апоптоза, нейрональную молекулу NCAM .

### ВВЕДЕНИЕ

Медуллобластомы относятся к опухолям, часто встречаемых новообразований головного мозга у детей (1,2,4,5). Медуллобластомы развиваются из зернистых клеток – медуллобластов в черве мозжечка, вследствие мутации целого ряда генов, ответственных за пролиферацию и дифференцировку клеток, в частности внутриклеточных путей передачи дифференцировочных сигналов “WNT” и “Shh” (8,11,). По степени злокачественности медуллобластомы относят к высоко злокачественным опухолям, характеризующимся продолженным ростом, метастазированием, высокой резистентностью к химио и лучевой терапии и короткой продолжительностью жизни, 5-и летняя выживаемость больных, несмотря на современное лечение, составляет не более 50% (1,2,8). В то же время медуллобластомы встречаются и у взрослых лиц в соотношении дети/взрослые 8:1,2 которое колеблется в зависимости от географических и национальных особенностей больных (5,7). До настоящего времени нет однозначного ответа, почему детская опухоль, возникающая из эмбриональных клеток – медуллобластов, возникает во взрослом периоде жизни, спустя 20-40 лет после рождения. Существует

целый ряд теоретических предположений, таких как «спящие», «не активированные опухолевые медуллобласты», сохраняются в мозге всю жизнь и лишь под влиянием каких-то факторов они активируются и происходит развитие опухоли (4,6, 9).

Не исключается и такое предположение, что опухолевая трансформация происходит в эмбриональном периоде, но опухолевые клетки очень медленно пролиферируют и лишь в определенном возрасте опухоль достигает тех размеров, которые проявляются клинически. Предполагается также, что возможна обратная дифференцировка зрелых клеток мозжечка до уровня медуллобласта под влиянием канцерогенов или вирусов, а затем происходит развитие медуллобластом (10).

В последнее время большое внимание уделяется стволовым опухолевым клеткам, возникшим из нормальных стволовых клеток под влиянием определенных генетических изменений (6,11), тем более, что в медуллобластах выявлено достаточное количество опухолевых стволовых клеток (6,11). Данные морфологических исследований медуллобластом взрослых и детей пока что не позволяют найти различия в гистоструктуре этих опухолей, применение современных молекулярно-генетических методов исследований и методов иммуногистохимии указывают на определенные различия между медуллобластами детей и взрослых. (5,8)

В то же время многие вопросы, связанные с возрастными особенностями медуллобластом еще не изучены, так не изучено их отношение к иммунным реакциям организма, не известна экспрессия генов апоптоза и онкосупрессоров, таких как ген p-53, экспрессия молекул адгезии, ответственных за миграционный и метастатический потенциал и многое другое. В этой связи целью настоящей работы явилось изучение содержания в медуллобластах клеток, содержащих важные для опухолевого процесса молекул и структур, так называемых маркеров или преддиктов, а также наличие в опухолевой ткани клеток иммунной системы. Для решения поставленной цели была использована панель из моноклональных антител, позволяющая определять на опухолевых клетках функционально важные молекулярные маркеры.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В исследованиях использовали 37 образцов медуллобластом, удаленных во время нейрохирургических операций. Возраст больных от 1,5 года до 44 лет. Гистологический диагноз установлен путем гистологического исследования биопсийного материала опухоли. В работе использовалась опухолевая ткань, полученная после операции. Взвесь опухолевых клеток и их жизнеспособность определяли общепринятым методом.

В работе была использована панель из 8 моноклональных антител, определяющая активацию, адгезию и апоптозные процессы в клетках и уровень иммунных клеток в опухоли. Это следующие моноклональные антитела: CD-3, CD-45, которые выявляют антигены экспрессированы на лейкоцитах (CD-45) и Т лимфоцитах (CD-3), CD-34 – антитело, выявляющее гемопозитические стволовые клетки, CD-56 антитело, выявляющее нейрональную молекулу

адгезии, которая экспрессируется на нервных клетках и которая ответственна за адгезивную и миграционную способность клеток. CD-38 и CD-25 антитела выявляют активационные молекулы, характеризующие пролиферативный потенциал клетки, CD-38 антитело к АДР-рибозил трансферазе – рецептору пролиферации, CD-25 антитело – рецептор интерлейкина-2, который является цитокином, стимулирующим пролиферацию клеток. CD-95 антитело выявляет наличие Fas-рецептора апоптоза на клетках, и отвечает за апоптотическую готовность клетки, CD-p-53 антитело выявляет онкосупрессорный протеин, синтезируемый геном p-53, (онкопротеин p-53) и который наиболее часто мутирует в опухолях. Все моноклональные антитела были производства фирмы «Сорбент» Института иммунологии РАМН (Россия) (3). Статистическую обработку материала проводили по пакету программы статобработки Statistica для ПК с определением M+m. Достоверность результатов (p) определяли с использованием критерия Стьюдента.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

При разделении больных с медуллобластомами в зависимости от возраста были сформированы 3 группы больных (таблица 1). 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.

Таблица

**Процентное содержание клеток в медуллобластомах, определяемых различными типами моноклональных антител**

Возраст (m+n)	CD детерминанты моноклональных антител									
	3	45	34	38	56	95	25	p-53	HLA-DR	ИПО-38
1-5 лет, 3,07+1,59 n=8	5,52± 1,59	2,28± 0,5	4,22± 2,62	21,18± 8,06	23,3± 6,12	24,2± 3,54	14,7± 5,08	8,25± 2,61*		17,8± 2,08
6-14 лет, 8,8+0,4 n=14	7,49± 2,02*	16,8± 9,07*	5,26± 1,4	17,7± 4,31	29,3± 4,86	23,1± 3,36	25,1± 3,36	16,5± 4,8		15,5± 4,4
15-40 лет, 21,25+3,72 n=9	4,05± 2,9	5,80± 2,8	2,29± 0,71*	13,6± 5,89	13,9± 3,65*	13,8± 3,90*	5,67± 3,47	19,6± 6,0	105± 6,8	16,05 ±5,76

**Примечание:** \* - достоверные отличия между группами (p<0,05).

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

было также выявлено достоверное увеличение количества клеток, экспрессирующих пан лейкоцитарный антиген CD-45 по сравнению с младшей детской группой взрослых пациентов. 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. Так количество клеток, содержащих панлейкоцитарную молекулу CD-45, было наибольшим в опухолях детей 6-9 лет, а наименьшим у детей до 5 лет. У взрослых также содержалось малое (до 6%) количество этих клеток. Обращает на себя внимание и малое содержание в опухолях взрослых пациентов гемопоэтических клеток, экспрессирующих CD-34 молекулу. Содержание клеток, экспрессируемых CD-38 молекулу, а также активированную молекулу ИПО-38 в опухолях было примерно одинаковым. Таким образом, активационные процессы и пролиферативный потенциал медуллобластом, если судить по этим маркерам, был во всех трех группах примерно одинаковым. Тогда как содержимое клеток, экспрессирующих нейрональную молекулу адгезии NCAM было достоверно ниже во взрослой группе пациентов и равнялось 13,9+3,65%, тогда как в младшей и средней детской группе было соответственно 23,3+6,12% и 29,3+4,86% CD-56+ положительных клеток. Медуллобластомы взрослых содержали достоверно меньше клеток, готовых вступить в апоптоз, так количество клеток, экспрессирующих рецептор апоптоза – Fas-рецептор (CD-95+ клетки) было равно 13,8+3,9%, а в опухолях других групп больных было 24,2+3,54% и 23,1+3,36% соответственно ( $p < 0,05$ ). В то же время в медуллобластомах взрослых содержалось достаточно большое число клеток, содержащих нормальный онкосупрессорный протеин P-53 - 19,6+6,0% по сравнению с младшей детской группой, где определяли 8,25+2,61% P-53+ клеток. В опухолях средней взрослой группе имелось достаточно высокое содержание p-53+ клеток – 16,51+4,82%. Выявлено также различия в содержании в опухолях клеток, экспрессирующих рецептор для ИЛ-2 – CD-25+ клеток. Наибольшее количество этих клеток содержались в средней возрастной группе 25,6+3,36%, несколько меньшее количество таких клеток было в группе детей до 5 лет и наименьшее количество было в группе взрослых пациентов – 5,67+5,47%. Низкое содержание клеток, содержащих протеин P-53 в медуллобластомах детей 1-5 лет указывает на значительные мутации и повреждения в этом онкосупрессивном гене, что связано с большой их злокачественностью и быстрым клиническим проявлением опухолевого роста в раннем детском возрасте (2,4). Больные медуллобластомами раннего возраста относятся к группе повышенного риска и неблагоприятного клинического течения (2).

Таким образом, на основании проведенных исследований, можно говорить как об общности этих опухолей, так и о наличии отличий между медуллобластомами, наблюдаемых у пациентов детского и взрослого возраста (5,8,10). В целом, для медуллобластом, наблюдаемых у взрослых пациентов характерно малое содержание NCAM+ клеток, малое содержание Fas-рецептора и большое число клеток с онкопротеином p-53 и низкое содержание в них гемопоэтических клеток и Т лимфоцитов по сравнению с опухолями детского возраста.

## ВИВОДИ

- Для медуллобластом різних вікових груп характерні як загальні, так і відмінні фенотипічні ознаки, які характеризують проліферативний і метастатичний потенціал, чутливість їх до апоптозу.

- Найбільше суттєво між собою відрізняються медуллобластоми дорослих і дітей раннього віку від 1-5 років.

- Медуллобластомам дорослих порівняно з опухлями дитячого віку характерно низьке вміст гемопоетичних і імунних клітин, високий вміст клітин онкопротеїну Р-53 і низький вміст клітин нейронної молекулярної адгезії, що може вказувати на різні причини їх виникнення як і на відмінності в клінічних проявах, таких як метастазування і рецидивування.

## Література

1. Берснев В.П. Опухоль мозжечка и IV желудочка у детей. СПб. Фарос плюс. 2004.
2. Орлов Ю.А. Комбинированное лечение опухолей головного мозга у детей. Онкология. 2005, 5: 330-335.
3. Пинегин Б.В., Ярилин А.М., Симакова Л.В. и др. Применение проточной цитометрии для оценки функциональной активности иммунной системы человека (Пособие для врачей-лаборантов). Москва. 2001.
4. Grawford J.R., Mac Donald T., Parker J. Medulloblastome in childhood: *Meu Biological advances. Lancet.Neural.*-2007, 6: 1073-1085.
5. Gurren E., Le G., Sainani C. et al. Do children and adults differ in survival from medulloblastoma? A study from the SEER registry. *J. Neurooncology.* 2009, 95: 81-85.
6. Fan X., Eberhart C.G. Medulloblastomas stem cells. *J. Clin. Oncol.* 2008, 26: 2821-2927.
7. Korshynov A., Nemke M., Wertt N. et al. Adult and pediatric medulloblastomas are genetically distinct and require different algorithms for molecular risk stratification. *F. Clin. Oncol.* 2010, 28 (18): 3054-3060.
8. Northcott P. et al. Pediatric and adult sonic hedgehog medulloblastoma and clinically and molecularly distinct. *Acta. Neuropathol.* 2011, 22: 231-240.
9. Ranke H., Hielscher N., Northcott P. et al. Adult medulloblastoma comprises three major molecular variants. *J. Clin.oncol.* 2011, 29 (19): 2717-2723.
10. Taylor M.D., Northcott P., Kerchunov A., Remke M. et al. Molecular subgroups of medulloblastoma: The current consensus. *Acta. Neuro. Patol.* 2012, 123: 465-472.
11. Jang Z. et al. Medulloblastoma subtype initiated by deletion of patched in lineage restricted progenitor or stem cells. *Cancer Cell.* 2008, 14: 135-145.

**О.М. Лісяний, Л.А. Кот, Н.А. Голярич, А.Г. Потапова**  
**Вікові особливості фенотипічних характеристик**  
**медуллобластом**

**ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України», м. Київ**

**Вступ.** Фенотипічні відмінності медуллобластом у дітей і дорослих свідчать про істотне відмінність у природі цих пухлин і вказують на різні механізми їх розвитку.

**Мета.** Вивчити фенотипічні характеристики медуллобластом дитячого та дорослого віку.

**Матеріали і методи.** У статті наведено дані дослідження клітин 37 зразків медуллобластом за допомогою моноклональних антитіл проти функціонально важливих клітинних маркерів.

**Результати.** Встановлено відмінності між медуллобластома дітей і дорослих пацієнтів, а саме в пухлинах дорослих визначається знижений вміст клітин, що експресують нейрональну молекулу NCAM, низький вміст клітин, що мають Fas-рецептор апоптозу і підвищений рівень онкосупресорного протеїну P-53. У медуллобластома дітей в 2 рази вищий вміст гемапоетических клітин CD-34 +. фенотипічні відмінності медуллобластом у дітей і дорослих свідчать про істотне відмінність у природі цих пухлин і вказують на різні механізми їх розвитку.

**Ключові слова:** медуллобластома, Fas-рецептор апоптозу, нейрональну молекулу NCAM.

*A.N. Lisiany, L.A. Kot, N.A. Goliarnyk, A.I. Potapova*  
**Age-dependent features of phenotypical description of medulloblastomas**

**Acad. A.P. Romodanov Institute of Neurosurgery NAMS of Ukraine, Kyiv**

**Purpose.** To study age-dependent phenotypical features of medulloblastomas.

**Materials and methods.** The article offers data on 37 samples of medulloblastomas investigated by the techniques of monoclonal antibodies against functionally important cellular markers.

**Results.** The differences established between medulloblastomas in children and adult patients included: a decreased level of cells expressing the neuronal molecule of NCAM, a low level of cells having Fas-receptor of apoptosis and increased oncosuppressor of P-53protein in adults. Medulloblastomas in children showed 2–times higher level of Cd-34+ hematopoetic cells.

**Conclusion.** The established phenotypical differences of medulloblastomas for children and adults are indicative of substantial difference in nature of these tumours and different mechanisms of their development.

**Key words:** medulloblastomas in children and adult patients, Fas-receptor of apoptosis, neuronal molecule of NCAM.