

ФУНКЦИОНАЛЬНИЙ СТАН ЦИТОКИНОВОЇ ЛАНКИ ІМУНІТЕТУ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНУ МІЄЛОЇДНУ ЛЕЙКЕМІЮ

**Т.Ю. Шляхтиченко, І.С. Дягіль, Ж.М. Мінченко,
І.В. Дмитренко, В.Г. Федоренко, О.О. Дмитренко**

ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини
НАМН України»

***Резюме.** Представлені дані дослідження рівнів прозапальних та протизапальних інтерлейкінів в сироватці периферичної крові у пацієнтів на хронічну мієлоїдну лейкемію (ХМЛ) на момент встановлення діагнозу. Виявлено, що розвиток ХМЛ супроводжується зміною балансу інтерлейкінів в сироватці периферичної крові. Баланс про-і протизапальних інтерлейкінів обумовлює направленість імунологічної відповіді організму у формуванні протиухлиного захисту.*

Ключові слова: хронічна мієлоїдна лейкемія, цитокіни, інтерлейкіни, імунна відповідь.

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЦИТОКИНОВОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ МИЕЛОИДНОЙ ЛЕЙКЕМИЕЙ

**Т.Ю. Шляхтиченко, И.С. Дягиль, Ж.Н. Минченко,
И.В. Дмитренко, В.Г. Федоренко, Е.А. Дмитренко**

ГУ «Национальный научный центр радиационной медицины НАМН Украины»

***Резюме.** Представлены данные исследования уровней провоспалительных и противовоспалительных интерлейкинов в сыворотке периферической крови у пациентов с хронической миелоидной лейкемией (ХМЛ) на момент установления диагноза заболевания. Выявлено, что развитие ХМЛ сопровождается изменением баланса интерлейкинов в сыворотке периферической крови. Баланс провоспалительных и противовоспалительных интерлейкинов обеспечивает направленность иммунологического ответа организма в формировании противоопухоловой защиты.*

Ключевые слова: хроническая миелоидная лейкемия, цитокіни, інтерлейкіни, імунний ответ.

FUNCTIONAL STATUS CYTOKINE IMMUNITY IN PATIENTS WITH CHRONIC MYELOID LEUKEMIA

T.Y. Shlyakhtychenko, I.S. Dyagil, J.N. Minchenko,
I.V. Dmytrenko, V.G. Fedorenko, E.A. Dmytrenko

National Academy of Medical Sciences of Ukraine.
State Institution «National research center for radiation medicine»

Summary. *The data of the study of the levels of proinflammatory and anti-inflammatory interleukins in serum of peripheral blood in patients with chronic myeloid leukemia (CML) at the time of diagnosis of the disease are introduced.*

It was found that the development of CML is accompanied by balanced changes in serum of interleukin peripheral blood. The balance of pro-and anti-inflammatory interleukins stipulates the direction of body immune response in the formation of anti-tumor protection.

Key words: *chronic myeloid leukemia, cytokines, interleukins, immune response.*

Зміни в продукції цитокінів відіграють важливу роль в патогенезі злоякісних захворювань кровотворної системи, тому що більшість з них являють собою пухлинний процес, який розвивається з імунокомпетентних клітин. Цитокіни не тільки впливають на клітини імунної та інших систем, а також опосередковують взаємозв'язок імунокомпетентних клітин з клітинами пухлинного клону [1]. До цитокінів відносять інтерферони (IFN), інтерлейкіни (IL), фактори некрозу пухлин (TNF), колонієстимулюючі фактори (КСФ), фактори росту, хемокіни. [2]

При злоякісному процесі зміни в системі інтерлейкінів можуть мати як кількісний, так і якісний характер і проявляються дисбалансом продукції інтерлейкінів Т-лімфоцитами-хелперами 1 типу (ТН-1) та Т-лімфоцитами-хелперами 2 типу (ТН-2). ТН-1 лімфоцити є продуцентами ІL-2, ІL-12, ІL-15, ІFN- γ ; ТН-2 лімфоцити продукують ІL-1, ІL-4, ІL-5, ІL-6, ІL-8, ІL-10, ІL-13. Дані літератури свідчать про порушення профілю ІL, що проявляється значним підвищенням рівню ІL, джерелом яких є ТН-2 і зниженням продукції ІL клітинами ТН-1 в динаміці прогресії пухлинної процесу при різноманітних злоякісних новоутвореннях[3,4,5]. Проте відносно співвідношення рівню прозапальних і протизапальних цитокінів у хворих на хронічну мієлоїдну лейкемію (ХМЛ) мають суперечливий характер.

Вважається, що низький процент периферичних Т-лімфоцитів – хелперів у хворих на ХМЛ в хронічній фазі захворювання та фазі акселерації відбувається внаслідок пригнічення диференційованої експресії цитокінів, що секретуються Т-лімфоцитами-хелперами І типу (ТН 1), та активації секреції цитокінів, які секретуються Т-лімфоцитами-

хелперами II типу (ТН 2)[5,6]. Це важлива умова в трактуванні їх ролі в регуляції різних форм імунологічної відповіді для оцінки ефективності лікування. Тому кількісне визначення цитокінів та аналіз їх співвідношення між собою на різних етапах захворювання має значення для спостереження за активністю та динамікою патологічного процесу, дозволяє судити про ефективність терапії та, можливо, бути прогностичним критерієм перебігу захворювання.

Мета. Вивчення концентрації прозапальних (ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8) протизапальних (ІЛ-4, ІЛ-10) інтерлейкінів та фактору проліферації Т-лімфоцитів(ІЛ-2) в сироватці периферичної крові (ПК) у хворих на ХМЛ в хронічній фазі до початку патогенетичної таргетної терапії іматинібом мезилатом для визначення стану цитокінового профілю хворих на етапі встановлення діагнозу захворювання.

Матеріали та методи досліджень. На етапі встановлення діагнозу ХМЛ визначення рівнів прозапальних інтерлейкінів ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, протизапальних інтерлейкінів ІЛ-4, ІЛ-10 та цитокіну проліферації Т-лімфоцитів ІЛ-2 виконано у 52 осіб у складі яких 26 чоловіків та 26 осіб жіночої статі. Всі пацієнти знаходилися в хронічній фазі (ХФ) захворювання. Контрольну групу склали 45 практично здорових осіб (донори крові). Обраний нами спектр інтерлейкінів, концентрації яких ми визначали в зразках сироватки крові хворих на ХМЛ *in vitro* на момент встановлення діагнозу захворювання оптимально відображають прозапальну, протизапальну, протипухлинну та цитотоксичну ланки імунної відповіді.

Кількісну оцінку концентрації в сироватці периферичної крові зазначених цитокінів проводили методом твердофазного імуоферментного аналізу на аналізаторі «MULTISKAN ASCENT» виробництва «LABSYSTEMS» (Фінляндія). Використовували тест-системи та контрольні сироватки: ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-10 «DIACLONE» виробництва Франція, згідно протоколам до тест-систем. Результати реакції визначали на багатоканальному спектрофотометрі при довжині хвилі 450 нм. За допомогою калібрувальної кривої розраховували концентрації зазначених цитокінів в пікограмах на 1 мл (пг/мл). Проведено статистичний аналіз із використанням програми статистичної обробки даних STATISTICA 6.0 із використанням методів кореляційного і дисперсного аналізів.

Результати та їх обговорення. Для визначення клінічної значущості цитокінової ланки імунітету і уточнення характеру імунної відповіді проведено дослідження рівню ІЛ-2, основних про-та протизапальних цитокінів у сироватці периферичної крові (ПК) хворих на ХМЛ у ХФ на момент встановлення діагнозу захворювання. Результати дослідження представлені у табл. 1.

У більшості хворих в ХФ ХМЛ до лікування визначено високий рівень загальної кількості лейкоцитів, за рахунок збільшення клітинних елементів гранулоцитарного ряду (CD45+14-), середнє значення яких становило $42,9 \pm 20,7 \times 10^9 / \text{л}$.

Показники концентрації основних прозапальних інтерлейкінів (ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8) у сироватці ПК хворих ХФ ХМЛ порівняно з такими контрольної групи (здорових донорів) наведено у табл. 1.

Таблиця 1

Вміст основних прозапальних інтерлейкінів у сироватці периферичної крові хворих на ХМЛ у ХФ на момент встановлення діагнозу та в групі контролю

Інтерлейкіни	Концентрація інтерлейкінів, пг/мл	
	Контроль (n=45) M \pm SD	ХМЛ (n=52) M \pm SD
ІЛ-1 β	6,6 \pm 0,84	34,3 \pm 4,50*
ІЛ-6	13,0 \pm 2,04	37,0 \pm 3,49*
ІЛ-8	9,0 \pm 0,83	28,6 \pm 4,41*

Примітка. * – вірогідність розбіжностей з показниками контрольної групи (донори) $p < 0,001$

Порівняльний аналіз рівня основних прозапальних інтерлейкінів (табл. 2) у хворих на ХМЛ у ХФ, проведений до початку лікування імаїнібром мезилатом, показав, що в усіх випадках концентрації ІЛ-1 β , ІЛ-6 та ІЛ-8 вірогідно ($p < 0,0001$) перевищують аналогічні показники у групі донорів.

У хворих з ХФ ХМЛ визначено достовірно низький рівень спонтанної секреції ІЛ-2 ($p < 0,001$) і за даними середньогрупових значень концентрація ІЛ-2 в сироватці ПК становила (4,41 \pm 0,76) пг/мл, що у 3 рази нижче порівняно з групою донорів (13,3 \pm 2,41).

Результати дослідження протизапальних інтерлейкінів ІЛ-4 та ІЛ-10 представлено у табл.2.

Таблиця 2

Вміст основних протизапальних інтерлейкінів у сироватці периферичної крові хворих ХФ ХМЛ на момент встановлення діагнозу

Цитокіни	Концентрація інтерлейкінів, пг/мл	
	Контроль (n=45) M \pm SD	ХМЛ (n=52) M \pm SD
ІЛ-4	3,55 \pm 0,52	5,8 \pm 0,57*
ІЛ-10	9,10 \pm 0,61	27,3 \pm 4,54*

Примітка. * – вірогідність розбіжностей з показниками контрольної групи (донори) $p < 0,001$

Рівень спонтанної продукції ІЛ-10, що пригнічує диференціацію Th1 та синтез прозапальних цитокінів макрофагами, достовірно вищий, ніж у периферичній крові донорів ($p < 0,001$). Сироваткові рівні ІЛ-4, що має синергічну з ІЛ-10 дію – також були підвищені порівняно з контрольною групою (табл. 2).

Враховуючи сучасні уявлення відносно того, що ІЛ-10, за умов його надмірної концентрації у периферичній крові, може впливати на імунологічну реактивність організму, сповільнювати синтез цитокінів запалення, активувати процеси антитілоутворення В-клітин та проліферацію Т-клітин, можна припустити, що підвищений рівень ІЛ-10 уповільнює процеси Т-клітинного імунітету і, таким чином, знижує протипухлинну опірність організму.

Цитокіновий спектр у хворих на ХМЛ у ХФ характеризується високим рівнем, як основних прозапальних інтерлейкінів ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, так і їх антагоністів ІЛ-4, ІЛ-10 у сироватці ПК.

Отримані дані свідчать про те, що розвиток ХМЛ супроводжується зміною балансу цитокінів в сироватці периферичної крові, внаслідок зміни їх продукції імунокомпетентними клітинами. У дебюті ХМЛ відзначається розвиток ознак запальної реакції, що виражається в достовірному збільшенні рівнів продукції основних прозапальних інтерлейкінів (ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8). Значне підвищення вмісту протизапальних інтерлейкінів (ІЛ-4, ІЛ-10) у хворих на ХМЛ у ХФ можна розцінити як фактор, який формує адаптивний імунітет, що сприяє стимуляції В-клітинних реакцій. Синергічна дія протизапальних інтерлейкінів, їхній надмірний рівень, передусім продукції ІЛ-10 пригнічує синтез ІЛ-2, поєднується зі зниженням активності протипухлинного захисту, що є несприятливою прогностичною ознакою. Баланс про- і протизапальних інтерлейкінів, в кінцевому разі, може бути ключовим показником, що обумовлює направленість імунологічної реактивності у формуванні протипухлинного захисту.

Висновки

1. У хворих на ХМЛ в ХФ встановлено зміни балансу цитокінів, що характеризуються порушенням їх спонтанної продукції лімфоїдними клітинами.
2. Визначено вірогідне підвищення рівнів продукції, як прозапальних інтерлейкінів (ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8), так і їх антагоністів (ІЛ-4, ІЛ-10), а також зниження вмісту ІЛ-2 у сироватці ПК у хворих на ХМЛ в ХФ.

Література

1. Бережная Н.М. Иммунология злокачественного роста./ Н.М. Бережная, В.Ф. Чехун // К. : Наук. думка. – 2005. – 786 с.

2. Телетаева Г.М. Цитокины и противоопухолевый иммунитет / Г.М. Телетаева // Практическая онкология. – 2007. – Т. 8. – № 1. – С. 211–218.
3. Phenotypic and functional characterization of the host immune compartment of chronic myeloid leukemia patients in complete hematological remission / A.Guarini [et al.] // Brit. J. Haematol. – 2001. – Vol. 113. – P. 136–142.
4. Normal intrinsic Th1/Th2 balance in patients with chronic phase chronic myeloid leukemia not treated with interferon-alpha or imatinib / A. Kiani [et al.] // Haematologica. – 2003. – Vol.88. – P. 754–61.
5. Pawelek G. Cellular immune responses in autologous chronic myelogenous leukemia cells in vitro / G. Pawelek [et al.] // Cancer Immunol.Immunother. – 2005. – Vol. 42. – P. 433–435.
6. Restoration of Th1 cytokine synthesis by T- cells of patients with chronic myelogenous leukemia in cytogenetic and hematologic remission with interferon-a / G. Reuben [et al.] // Clin Cancer Res. – 2000. – Vol. 6. – P. 1671–1677.

УДК 616.155.392.8+576.31:616.155.2+616-097

МОРФОМЕТРИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТРОМБОЦИТІВ У ХВОРИХ НА МІЄЛОПРОЛІФЕРАТИВНІ НЕОПЛАЗІЇ

Є.В. Шороп

ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України», Київ

Резюме. Мета – Охарактеризувати розміри тромбоцитів периферичної крові (ПК) у хворих на мієлопроліферативні неоплазії (МПН) та визначити їх особливості залежно від нозологічної форми захворювання.

Матеріали і методи. Обстежено кров 140 хворих на МПН, серед яких 49 пацієнтів із первинним мієлофіброзом (ПМФ), 44 – зі справжньою поліциємією (СП), 47 – із хронічною мієлоїдною лейкемією (ХМЛ). У якості контролю досліджено кров 38 практично здорових осіб. Розміри тромбоцитів визначали за допомогою автоматичного гематологічного аналізатора SYSMEX KX-21N (Sysmex Corporation, Японія) та комп'ютерного аналізу цифрових мікрофотографій, отриманих методом світлової мікроскопії.

Результати. При дослідженні за допомогою автоматичного гематологічного аналізатора у хворих на ХМЛ виявлено збільшення середнього об'єму тромбоцитів (MPV) та відносної кількості великих тромбоцитів (P-LCR) порівняно з групою здорових осіб. За допомогою комп'ютерного аналізу цифрових мікрофотографій мазків ПК виявлено статистично значиму різницю між розмірами тромбоцитів у хворих на СП та ПМФ.

Висновок. Показано, що розмір тромбоцитів у мазках ПК, виражений як логарифм їх площі, може бути використаний у якості критерію диференційної діагностики ПМФ та СП.