

ОНКОИММУНОЛОГИЯ, ГЕМОБЛАСТОЗЫ

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПЛЕВРАЛЬНЫХ ВЫПОТОВ ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯХ

Белая Е.В., Базарный В.В.

Уральская государственная медицинская академия,
г. Екатеринбург, Россия
Свердловская областная клиническая больница № 1,
г. Екатеринбург, Россия

Лабораторные характеристики плеврального выпота недостаточно специфичны и часто позволяют лишь подтвердить воспалительный характер процесса. Цель данной работы заключалась в определении диагностической ценности иммунологических особенностей плевральной жидкости (ПЖ) при гемобластозах в сравнении с опухолевыми плевритами другой этиологии.

Проведен ретроспективный анализ результатов лабораторных исследований 30 госпитальных пациентов. Первую группу составили 18 больных с лимфопролиферативными заболеваниями (ЛПЗ), преимущественно — с В-клеточным вариантом ХЛЛ, 2-ю (группу сравнения) — 12 пациентов с опухолевыми плевритами, причиной которых были метастазы рака яичника (Т3N0M1) и недифференцированный плоскоклеточный рак главного бронха (Т3N0M2). Диагнозы были установлены на основании стандартных критериев.

Исследование ПЖ включало комплекс тестов: стандартный химико-микроскопический анализ, содержание острофазовых реактантов (С-реактивный белок, церулоплазмин, иммуноглобулины), фактор некроза опухолей α (TNF α). Использованы унифицированные тесты, для автоматической регистрации результатов использованы биохимический анализатор «Ciba corning Express plus» (Bayer) и фотометр «MultiScan» (Финляндия). Статистическая обработка данных была проведена с использованием программного пакета «Statistica».

При проведении рутинного исследования ПЖ не было выявлено существенных различий в показателях между группами, за исключением несколько более высокого уровня общего белка у пациентов с ЛПЗ. Концентрации иммуноглобулинов у большинства больных находились в пределах нормальных значений. Уровень СРБ в ПЖ обеих групп не различался, но превысил границы референтных интервалов (более 22,8 мг/л). В группе с раковыми плевритами в ПЖ имелась тенденция к повышению в 3 раза уровня церулоплазмينا ($p > 0,05$). У пациентов с плевритом вследствие ЛПЗ нами выявлена тенденция к повышению содержания TNF α в 2 раза ($p > 0,05$) в срав-

нении с раковым плевритом, хотя реальная клиническая ценность этого показателя для дифференциации различных видов плевритов невысока.

В целом обнаруженные нами изменения иммунологических параметров ПЖ носят относительно неспецифический характер. Однако при индивидуальном анализе соотношений различных параметров нами было отмечено заметное различие в величине индекса СРБ/TNF между группами. Диагностическая эффективность (при Se 80%) этого параметра достаточно высока, что позволяет применять его вместе с рутинными методами при установлении различий опухолевых плевритов и плевритов при ЛПЗ.

ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНОГО И ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ С ОНКОЗАБОЛЕВАНИЯМИ III-IV СТАДИЙ В РЕЗУЛЬТАТЕ СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА «ЦЫГАПАН» И МЕТОДА ИЗБИРАТЕЛЬНОЙ ХРОНОФОТОТЕРАПИИ

Гусева О.А., Борисов В.А.

ГУ НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, Москва, Россия
Центр избирательной хронофототерапии, Москва, Россия

Онкологические заболевания манифестируются различными видами иммунологических дефектов. К сожалению, имеющиеся методы традиционной терапии (лучевая, хирургическая, химиотерапия), как правило, усугубляют иммунологические срывы, приводящие к развитию различных форм иммунодефицитов. В таких случаях больным после курса традиционной терапии показано проведение реабилитационных мероприятий, направленных на восстановление нарушенных функций иммунной системы. С этой целью успешно применяется метод избирательной хронофототерапии (ИХФТ), способствующий восстановлению механизмов противоопухолевой защиты и устранению иммунодефицитных состояний. Вместе с тем имеются положительные результаты комплексного применения препарата «Цыгапан» у больных с разными формами патологий, в том числе и при онкологии для предотвращения тяжелых последствий химиотерапии.

Цель исследования заключалась в изучении влияния препарата «Цыгапан» на клеточное и гуморальное звено иммунитета при его сочетанном применении с ИХФТ у больных с онкозаболеваниями III-IV стадий.

Было сформировано две группы больных, проходивших курс реабилитации после традиционной терапии. Контрольную группу (I группа) составляли больные,

проходившие только ИХФТ (15 человек), во II группу входили лица, получавшие вместе с ИХФТ препарат «Цыгапан» в суточной дозе 3600 мг (14 человек). Состояние клеточного иммунитета определяли по содержанию клеток, экспрессирующих CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, CD56, CD38, CD54, CD71, CD95. Гуморальный иммунитет оценивали по концентрациям сывороточных иммуноглобулинов классов А, М, G.

Согласно полученным нами данным, состояние Т-клеточного иммунитета у больных II группы в период реабилитации практически не отличалось от такового у больных I группы. Во всех случаях отмечался достоверный рост Т-лимфоцитов за счет увеличения ЦТЛ, а также НК-клеток, несущих CD56.

Вместе с тем, у больных II группы значительно возросло количество В-лимфоцитов. Это коррелировало с повышением экспрессии CD38 на 15-20% по сравнению с первоначальным уровнем. У больных I группы уровень экспрессии CD38 повышался лишь на 5-10%. У 80% больных обеих групп экспрессия CD38 до начала курса реабилитации была на 10% ниже средней физиологической нормы.

При исследовании гуморального звена, отмечалось значительное возрастание концентраций IgA и IgG в сыворотке больных II группы по сравнению с I группой. Так, при сочетанном применении препарата «Цыгапан» и ИХФТ уровень иммуноглобулинов данных классов в 1,5-2,5 раза превышал первоначальные показатели. Следует заметить, что в обеих группах до начала курса реабилитации концентрации IgA и IgG были ниже физиологической нормы. Но, применение только ИХФТ обеспечивало повышение их концентраций лишь до нижней границы физиологической нормы.

Исходя из полученных нами данных, можно сделать вывод о воздействии препарата «Цыгапан» прежде всего на гуморальное звено иммунитета. Это дает основания предполагать целесообразность применения этого препарата сочетано с ИХФТ у онкологических больных III-IV стадий с выраженной недостаточностью гуморального иммунитета, а также с нарушениями В-клеточного звена.

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СЫВОРОТОЧНОГО TNF α И ЭРИТРОПОЭТИНА У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ

Ермаков Г.А.

Амурская государственная медицинская академия,
г. Благовещенск, Россия

Введение. Известно, что параметры цитокиновой регуляции отражают состояние системы межклеточных

отношений и динамику иммунных изменений. Исследования цитокинового профиля у детей с лимфопролиферативными заболеваниями представляют значительный интерес в связи с внедрением методов определения цитокинов в диагностическом процессе.

Цель исследования. Анализ изменений цитокинового профиля, включающего показатели сывороточного TNF α и эритропоэтина у детей с ОЛЛ, в зависимости от наличия диагностически значимых титров антител к *Candida albicans* и *Aspergillus fumigatus* в сыворотке крови.

Материалы и методы. Контингент исследования — дети с диагнозом ОЛЛ, первично активная стадия, в возрасте от 3 до 17 лет. Общее количество детей в исследуемой группе составило 43 ребенка. Численность контрольной группы — 20 человек (условно здоровые).

Исследование цитокинов сыворотки крови TNF α и эритропоэтина проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием реактивов группы компаний Биохиммак BCM «BIOSOURCE».

Антитела IgG к грибам *Candida albicans* и *Aspergillus fumigatus* определяли методом ИФА и применением диагностических тест систем производства «Вектор-бест».

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программ «Statistica 6.0» и Microsoft Excel.

Результаты. Нами было проведено исследование уровня сывороточных цитокинов у 43 детей с ОЛЛ в зависимости от выявленных диагностически — значимых титров антител к грибам *Candida albicans* и *Aspergillus fumigatus*.

Выявлено достоверное снижение концентрации эритропоэтина у детей с ОЛЛ по сравнению с группой условноздоровых в 2,6 раза. У детей с ОЛЛ в сыворотке которых выявлялись АТ к вышеуказанным инфекциям, концентрация эритропоэтина была с высокой степенью достоверности снижена более чем в 3 раза.

Сывороточная концентрация TNF α , в отличие от эритропоэтина, была повышена у детей с ОЛЛ по сравнению с контрольной группой условно здоровых детей. Так, повышение в 4,3 раза отмечалось у детей с ОЛЛ, имевших IgG-антитела против *Candida albicans* ($p < 0,01$), повышение в 4,3 раза отмечалось у детей с ОЛЛ, имевших IgG-антитела против *Aspergillus fumigatus*.

Закключение. Таким образом, выявлена инверсия соотношения TNF α и эритропоэтина у детей с ОЛЛ при наличии диагностически значимого титра антител к грибам рода *Candida albicans* и *Aspergillus fumigatus*, что может быть использовано при решении прогностических задач у детей с ОЛЛ.

ТАБЛИЦА. СОДЕРЖАНИЕ TNF α И ЭРИТРОПОЭТИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ДЕТЕЙ С ОЛЛ (К ТЕЗИСАМ ЕРМАКОВА Г.А.)

Группы детей с ОЛЛ	n	Эритропоэтин, мМЕ/мл (M $\pm$ m)	TNF α , пг/мл (M $\pm$ m)
Контроль	20	64,91 $\pm$ 3,8	6,37 $\pm$ 3,2
IgG к <i>Candida albicans</i>	9	18,34 $\pm$ 3,06*	39,29 $\pm$ 4,91*
IgG к <i>Aspergillus fumigatus</i>	4	14,92 $\pm$ 2,49*	32,09 $\pm$ 4,01*
Дети с ОЛЛ без Ат к возбудителям	11	24,2 $\pm$ 2,41*	33,82 $\pm$ 3,71*

Примечание. * — $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой условно здоровых детей.

ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ЭФФЕКТОРНЫХ ЛИМФОЦИТОВ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

**Заботина Т.Н., Бокин И.И., Короткова О.В.,
Борунова А.А., Очеева Н.Ю., Жордания К.И.,
Паниченко И.В., Сельчук В.Ю., Кадагидзе З.Г.**

*Государственное учреждение «Российский
онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина
РАМН», Москва, Россия*

Введение. Одним из основных механизмов осуществления цитотоксической функции эффекторных лимфоцитов является экзоцитоз литических гранул, в частности, перфорины и гранзимов, с последующим осмотическим «взрывом» и гибелью клеток мишеней. Известно, что действие тандема этих молекул необратимо. Представляет интерес, какова специфичность данной реакции, поскольку функционирование цитотоксических эффекторных Т-лимфоцитов является антигенспецифическим, в то время как НК-клетки не обладают иммунологической памятью и проявление их функциональной активности не связано с антигенами главного комплекса гистосовместимости.

Целью данной работы явилось выявить особенности цитотоксического потенциала эффекторных лимфоцитов первичных больных раком яичников.

Материалы и методы. В исследование включены 35 первичных больных раком яичников, средний возраст которых составил 53,9 года. В контрольную группу вошли 11 практически здоровых женщин в возрасте от 25 до 58 лет. Исследовали иммунофенотип лимфоцитов периферической крови до и через 2 недели после хирургического лечения с применением МКА, конъюгированных FITC, PE, PE-Cy5, PC5, Per-CP («Beckman Coulter», «BD Biosciences»). Для изучения цитотоксической состоятельности клеток-эффекторов использовали коммерческую тест-систему, содержащую антитела к внутриклеточному перфोरину («BD Biosciences»). Многопараметровый количественный проточно-цитометрический анализ проводили с применением стратегии последовательного «гейтирования» на цитометре «FACSCalibur» («Becton Dickinson»).

Результаты. Анализ линейных маркеров, характерных для основных популяций лимфоцитов (T⁺B⁺НК-клетки), выявил значительные нарушения этого баланса в группе больных до операции в пользу CD45⁺CD3⁺CD16⁺CD56⁺НК-клеток и составил 30,5±4,8% по сравнению с контролем — 16,5±2,1%. После лечения уровень НК-лимфоцитов составил 23±1,8%. Количество CD45⁺CD3⁺CD8⁺ цитотоксических Т-лимфоцитов, напротив, было снижено по сравнению с донорами как до лечения, так и после (26,5±2,9, 21,9±3,1, 19,8±1,4% соотв.). Число перфоринсодержащих лимфоцитов статистически достоверно повышено у больных по сравнению с контролем независимо от проведения хирургического лечения и составило у доноров — 25,4%, до операции — 35,6%, после операции — 32,4%. Однако при изучении субпопуляционного распределения перфорины оказалось, что нарастание пула лимфоидных клеток, содержащих внутриклеточный перфорин, происходило преимущественно за счет CD45⁺CD3⁺CD16⁺CD56⁺Perforin⁺

НК-клеток, но не за счет CD45⁺CD3⁺CD8⁺Perforin⁺ цитотоксических Т-лимфоцитов.

Таким образом, анализ цитотоксического потенциала эффекторных лимфоцитов показал, что у первичных больных раком яичников по сравнению с донорами цитотоксическая активность повышена, но представлена преимущественно неспецифическими CD45⁺CD3⁺CD16⁺CD56⁺НК-клетками.

ПОКАЗАТЕЛИ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ У ДЕТЕЙ БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ

Кадричева Т.Г.¹, Манчук В.Т.², Кадричева С.Г.²

*¹ КГБУЗ «Красноярская краевая детская больница»,
г. Красноярск, Россия*

*² НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН,
г. Красноярск, Россия*

Несмотря на очевидные успехи в терапии острых лимфобластных лейкозов (ОЛЛ) у детей, нельзя не отметить значительное количество инфекционных осложнений во время химиотерапии, а также связанные с ними случаи смертности. В связи с этим целью исследования явилось изучение одного из звеньев неспецифического иммунитета у пациентов с ОЛЛ.

Под наблюдением находилось 12 детей (9 мальчиков и 3 девочки) в возрасте от 3,2 до 17,2 года, средний возраст составил 8,9 года. У 11 больных впервые диагностирован ОЛЛ, у 1 — второй рецидив ОЛЛ. Из наблюдаемых пациентов индукционную химиотерапию получали 11, поддерживающую химиотерапию — 1 больная. У всех пациентов дважды производился подсчет гемограммы и хемилюминесцентный анализ цельной крови во время инфекционных осложнений: на фоне нейтропении и после восстановления количества нейтрофилов. Хемилюминесцентный анализ цельной крови позволяет оценить функциональную активность фагоцитов, а именно их бактерицидность и завершенность фагоцитоза. Оценивалась спонтанная и зимозан-индуцированная хемилюминесценция. В качестве индуктора «дыхательного взрыва» использован онсонизированный зимозан. Оценивались следующие характеристики хемилюминограммы: время выхода кривой на максимум, максимальное значение интенсивности свечения, площадь кривой свечения. Статистическая обработка проведена с помощью статистической программы «Statistica 7.0».

Среди инфекционных осложнений наблюдались следующие: мукозит — в 4 случаях, герпетический стоматит — в 1, энтеропатия — в 1, инфекция мочевыводящих путей — в 1, фебрильная нейтропения — в 5 случаях. Количество лейкоцитов колебалось от 0,2 до 39,4 тыс/мкл (среднее — 3,9 тыс/мкл), нейтрофилов — от 0 (при подсчете лейкоцитарной формулы в мазке не выявлены) до 0,6 тыс/мкл (в среднем 0,1 тыс/мкл). После купирования инфекционных осложнений и восстановления показателей гемограммы содержание лейкоцитов составило от 2,8 тыс/мкл до 12,6 тыс/мкл (в среднем 7,7 тыс/мкл), нейтрофилов — от 1,3 до 11,8 тыс/мкл (в среднем 4,6 тыс/мкл). Все больные получали антибактериальную, по показаниям — противогрибковую, противовирусную терапию, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор.

Проведение хемилюминесцентного анализа цельной крови в период нейтропении у детей с ОЛЛ и после увеличения числа нейтрофилов не показало достоверных отличий характеристик хемилюминограммы.

Таким образом, хемилюминесцентный анализ цельной крови показал, что после купирования инфекционного осложнения и восстановления количества нейтрофилов у больных ОЛЛ на фоне проводимой химиотерапии восстановления цитотоксической функции гранулоцитов не происходит.

ОСОБЕННОСТИ СОСТОЯНИЯ ИММУННОГО СТАТУСА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТАДИИ РАКА ЖЕЛУДКА

Казакова Н.Н., Савченко А.А., Яцинов М.В.,
Дыхно Ю.А.

*НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН,
г. Красноярск,
Красноярский государственный медицинский
университет, г. Красноярск, Россия*

По степени распространенности рак желудка занимает в России среди онкологических заболеваний второе место после рака легкого у мужчин и рака молочной железы у женщин. В большинстве случаев рак желудка диагностируют на поздних стадиях и он имеет плохой прогноз. Рост опухоли сопровождается изменением активности функционального состояния иммунной системы. Ряд исследователей отмечают, что опухоль дополнительно индуцирует иммуносупрессию, что, в частности, приводит к неэффективности противоопухолевой иммунотерапии.

Целью исследования явилось изучение иммунного статуса и фенотипического состава лимфоцитов крови больных раком желудка в зависимости от стадии развития опухоли.

На базе Красноярского краевого онкологического диспансера обследовано 56 пациентов, страдающих раком желудка, в возрасте 32-64 лет. В качестве контроля обследовано 106 здоровых человек аналогичного возраста. Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов крови оценивали с помощью метода непрямой иммунофлуоресценции с использованием моноклональных антител CD3, CD4, CD8, CD16, HLA-DR и CD72. Концентрацию иммуноглобулинов класса А, М, G в сыворотке крови определяли методом иммунодиффузии по Манчини. Состояние гуморального иммунитета характеризовали также уровнем относительного синтеза IgA (IgA/CD72⁺), IgM (IgM/CD72⁺) и IgG (IgG/CD72⁺).

Установлено, что процентное содержание лимфоцитов у больных раком желудка при II и III стадиях достоверно выше, чем у лиц контрольной группы. В то же время у больных на IV стадии заболевания процентный уровень лимфоцитов снижается до диапазона нормы. Независимо от стадии заболевания у больных в периферической крови статистически достоверно снижено относительное содержание и повышено абсолютное количество CD3⁺ лимфоцитов. При этом максимальное содержание Т-лимфоцитов выявляется у больных на III стадии заболевания. Также независимо от стадии рака легкого в периферической крови больных снижено относительное количество CD4⁺ клеток. В то же время максимальный процентный уровень данной субпопуляции

Т-лимфоцитов обнаружен у лиц на III стадии заболевания. Только на III и IV стадиях заболевания выявляется статистически достоверное повышение абсолютного содержания CD4⁺ и CD8⁺ лимфоцитов.

Независимо от стадии заболевания у больных раком желудка в периферической крови наблюдается повышение относительного и абсолютного содержания CD16⁺ и HLA-DR⁺ лимфоцитов. Относительное и абсолютное количество CD72⁺ лимфоцитов независимо от стадии патологического процесса достоверно выше у больных раком желудка относительно величин аналогичных показателей контрольной группы. Выявляются значительные изменения и в состоянии гуморального иммунитета. Так, на II, III и IV стадиях заболевания у обследуемых лиц снижается концентрация IgG и повышается уровень ЦИК. При этом уровни относительного синтеза иммуноглобулинов у больных снижены. Причем установлено, что уровни относительного синтеза IgA и G понижены независимо от стадии заболевания, тогда как уровень относительного синтеза IgM снижен только у больных на III и IV стадиях патологического процесса.

Таким образом, у больных раком желудка на II, III и IV стадиях заболевания выявляется снижение относительного содержания общих Т-лимфоцитов и CD4⁺ клеток. В то же время в иммунном статусе больных выявляются и компенсаторные процессы, характеризующие активацию противоопухолевого иммунитета: повышение содержания НК-клеток на всех наблюдаемых стадиях заболевания и увеличение количества цитотоксических Т-лимфоцитов на III и IV стадиях. Повышенный уровень В-лимфоцитов в периферической крови больных раком желудка не зависит от стадии заболевания и определяется функционально незрелыми клетками. Реакция гуморального иммунитета характеризуется только снижением концентрации IgG в сыворотке крови больных на всех исследуемых стадиях заболевания. Повышенный уровень ЦИК может определяться пониженной реактивностью фагоцитирующих клеток. Следовательно, при разработке методов иммунотерапии необходимо учитывать, что при наличии иммунодефицитного состояния у больных раком желудка в целом, тем не менее, могут развиваться реакции противоопухолевого иммунитета.

АНАЛИЗ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ЛИМФОЦИТОВ ПРИ В-КЛЕТОЧНОМ ХРОНИЧЕСКОМ ЛИМФОЛЕЙКОЗЕ

Наумова Е.В.

Кафедра КЛД РМАПО, Москва, Россия

Характер экспрессии антигенов опухолевыми лимфоцитами может меняться как в сторону увеличения, так и в сторону снижения плотности рецепторов. Интенсивность флуоресценции клетки, регистрируемая проточным цитофлуориметром, зависит от количества меченых моноклональных антител (МАТ), связавшихся со специфическим поверхностным антигеном. Средняя интенсивность флуоресценции MFI (mean fluorescence intensity), может служить при соблюдении стандартных условий измерений количественным критерием, характеризующим плотность рецепторов на клетках. При хроническом

лимфолейкозе опухолевый субстрат представлен морфологически зрелыми лимфоцитами, однако встречаются случаи заболевания с морфологией атипичных лимфоцитов, но с характерным для этого заболевания иммунофенотипом. Поиск более ранних признаков прогрессирования заболевания способствует назначению адекватной терапии, улучшению качества жизни пациентов.

Задачами исследования явились оценка фенотипа опухолевых клеток у больных с В-ХЛЛ в зависимости от особенностей морфологии опухолевого субстрата и стадии заболевания. В работе были использованы данные обследования 140 больных с диагнозом В-ХЛЛ. Для группы сравнения при оценке характера экспрессии антигенов использовалась периферическая кровь 20 доноров.

По морфологии опухолевого субстрата среди больных с ХЛЛ были выделены две группы:

- I группа (102 пациента: 56 мужчин и 46 женщин) с морфологией малого лимфоцита;
- II группа (38 пациентов: 24 мужчины и 14 женщин) с морфологией опухолевых клеток, схожей с широкоцитоплазматическими лимфоцитами (результаты приведены в таблице).

У пациентов с классической морфологией опухолевого субстрата наблюдалось достоверное снижение экспрессии CD19 по сравнению с донорами и второй группой. Экспрессия CD20 была значительно ниже у пациентов с ХЛЛ, чем у доноров (при этом у пациентов первой группы это снижение было значительнее). Экспрессия CD23 незначительно ниже у пациентов со вторым типом морфологии опухолевых клеток, но в обоих случаях ниже, чем у доноров.

Достоверных различий в экспрессии анализируемых антигенов при различных морфовариантах В-ХЛЛ выявлено не было, а по отношению к донорам эти изменения носили одинаковый характер, в дальнейших исследованиях пациентов по морфологии опухолевого субстрата не разделяли.

В зависимости от стадии заболевания всех пациентов разделили на три группы:

- I группа – больные на стадии А (по Binet) – n = 98 (56 мужчин и 42 женщины);
- II группа – больные на стадии В и С (по Binet) – n = 22 (12 мужчин и 10 женщин);

ТАБЛИЦА (К ТЕЗИСАМ НАУМОВА Е.В.)

ПАРАМЕТРЫ	Доноры (n = 20)	I группа (морфология малого лимфоцита) (n = 102)	II группа (атипичная морфология) (n = 38)	Больные стадии А (n = 98)	Больные стадии В и С (n = 22)
	$\pm \Delta X$	$X \pm \Delta X$	$X \pm \Delta X$	$X \pm \Delta X$	$X \pm \Delta X$
CD19 ⁺ , %	10,34 $\pm$ 1,00	74,47 $\pm$ 2,70	73,73 $\pm$ 3,65	71,97 $\pm$ 2,37	75,16 $\pm$ 8,07
CD19, (MFI)	77,09 $\pm$ 6,00	45,8 $\pm$ 2,39*,**	62,64 $\pm$ 5,36	52,2 $\pm$ 2,76*	48,5 $\pm$ 9,1*
CD20 ⁺ , %	11,16 $\pm$ 1,98	70,01 $\pm$ 2,50	70,43 $\pm$ 3,43	68,11 $\pm$ 2,11	66,72 $\pm$ 7,61
CD20, (MFI)	361,02 $\pm$ 23,30	61,1 $\pm$ 3,3*,**	97,9 $\pm$ 14,0*	66,11 $\pm$ 5,3*	64,1 $\pm$ 5,2*
CD23 ⁺ , %	4,24 $\pm$ 0,59	64,06 $\pm$ 2,62	57,04 $\pm$ 5,53	63,95 $\pm$ 2,32	63,25 $\pm$ 7,64
CD23, (MFI)	80,77 $\pm$ 10,05	69,0 $\pm$ 5,12	66,0 $\pm$ 9,2	70,58 $\pm$ 5,7	73,7 $\pm$ 6,7

Примечание. p < 0,05 * – сравнение с донорами; ** – сравнение фенотипов морфовариантов между собой.

– III группа – больные на стадии прогрессирования заболевания, в крови которых определялось более 10% пролимфоцитов n = 20 (12 мужчин и 8 женщин).

Экспрессия CD19 достоверно уменьшается на хронической стадии заболевания по сравнению со здоровыми людьми, а затем, по мере развития и прогрессирования болезни, приближается к нормальным значениям. В процессе развития заболевания, особенно в стадии прогрессирования, наблюдается увеличение экспрессии CD20. Но эта величина все равно остается достоверно ниже таковой у доноров. Величина экспрессии CD23 постепенно снижается по мере развития заболевания, однако данное снижение не достоверно.

Таким образом, экспрессия основных В-клеточных антигенов при В-ХЛЛ не зависит от морфологических особенностей опухолевых клеток, а определяется стадией заболевания и, следовательно, может быть использована в оценке динамики опухолевого процесса и как дополнительный прогностический критерий развития ХЛЛ.

ЭКСПРЕССИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ИММУННОЙ СУПРЕССИИ FOXP3, TGF β И TGF β -RII В ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНЫМИ ИММУННЫМИ ПАТОЛОГИЯМИ

Олейник Е.К., Олейник В.М., Чуров А.В.

Институт биологии КарНЦ РАН, г. Петрозаводск, Россия

Целью настоящей работы было изучение уровня экспрессии молекулярных маркеров иммунной супрессии FOXP3, TGF β и TGF β -RII в лимфоцитах периферической крови у больных с различными иммунными патологиями. При развитии опухолей, при хронических вирусных инфекциях, как и при аутоиммунных процессах, антиген длительное время присутствует в организме, что, естественно, должно оказывать влияние на функции иммунной системы и приводить к иммунной модуляции. К тому же как вирусные, так и опухолевые антигены характеризуются высокой изменчивостью, которая позволяет опухолевым клеткам и вирусам успешно преодолевать иммунологический барьер, формируя иммунологическую толерантность. Можно предположить, что при развитии

опухолевых заболеваний, при хронических вирусных инфекциях и в процессе аутоиммунизации происходят нарушения в дифференцировке и функционировании тех или иных субпопуляций лимфоцитов-супрессоров Трег, которые могут оказывать регулирующее воздействие на иммунный ответ.

Экспрессия молекулярных маркеров иммунной супрессии была изучена у 21 больного с онкологическими заболеваниями (11 больных раком легкого и 10 больных колоректальным раком), у 14 больных с хронической папилломавирусной инфекцией (HPV16 и 18) и у 7 больных ревматоидным артритом, а контролем были 12 практически здоровых лиц.

Определение уровня экспрессии молекулярных маркеров лимфоцитов проводили методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с обратной транскрипцией (Real-Time RT-PCR). Относительный уровень экспрессии генов TGFβ-1, TGFβ-RII и FOXP3 определяли по уровню мРНК референсного гена GAPDH.

Полученные результаты представлены в таблице.

Сравнение уровней экспрессии молекулярных маркеров регуляторных лимфоцитов Трег в разных группах показало, что у больных с онкологическими заболеваниями наблюдается наиболее значительная активация лимфоцитов-супрессоров. При этом усиление экспрессии FOXP3 и TGFβ было выше у больных раком легкого по сравнению с колоректальным раком. В группе больных с вирусной инфекцией также отмечено возрастание уровней экспрессии цитокина-ингибитора TGFβ и транскрипционного фактора FOXP3. У больных с аутоиммунным заболеванием существенных изменений данных показателей иммунной супрессии не обнаружено. Таким образом, механизмы формирования иммунной супрессии в онкогенезе, а также при хронической вирусной инфекции могут быть связаны с активацией регуляторных лимфоцитов Трег с фенотипом FOXP3⁺TGFβ⁺.

Работа поддержана Программой Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине» и РФФИ-Карелия № проекта 08-04-98838.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ПАРАМЕТРЫ КЛЕТОК ОПУХОЛИ КАК ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА У БОЛЬНЫХ РАЗЛИЧНЫМИ НОВОООБРАЗОВАНИЯМИ ЯИЧНИКОВ

Паниченко И.В., Богатырёв В.Н., Кузнецов В.В., Нечушкин М.И., Анурова О.А., Жордания К.И.

Государственное учреждение «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН», Москва, Россия

Введение. Своеобразие клинического течения и трудности при определении прогноза у больных раком яичников (РЯ) заставляют вести поиск объективных критериев, отражающих течение заболевания.

Цель исследования. Оценка использования метода ДНК-проточной цитометрии у больных РЯ для определения важных объективных факторов, имеющих прогностическое значение.

Материалы и методы. В исследование включены 309 больных РЯ I-IV стадий, которым проведено лечение в ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН с 1993 по 2002 гг. Исследования ДНК в клеточной популяции проводили на лазерном проточном цитофлуориметре «EPICS-XL» («Coulter», США). Полученные данные были проанализированы при помощи программы «MultiCycle», используемой для анализа плоидности и числа опухолевых клеток в каждой фазе клеточного цикла («Phoenix Flow Systems», США).

Результаты. Содержание ДНК в опухолевых клетках было изучено у 309 больных РЯ, из них только у 77 (24,9%) выявлен диплоидный тип опухоли и у 232 (75,1%) – анеуплоидный. При этом группа анеуплоидных новообразований (n = 232) крайне неоднородна по своему составу: у 53 (22,8%) в опухолях отмечена анеуплоидия с потерей хромосом (ИДНК < 1,0), у 146 (62,7%) – анеуплоидия в пределах митотического цикла (ИДНК = 1,1-1,9), у 8 (3,4%) – тетраплоидные опухоли (ИДНК = 2,0), у 7 (3,0%) – гиперанеуплоидные опухоли (ИДНК > 2,1), и у 18 (7,7%) – многокლოновые опухоли. Анеуплоидные опухоли достоверно чаще определялись у пациентов с III-IV стадиями заболевания, в серозных или светлоклеточных аденокарциномах, а также в опухолях с низкой

ТАБЛИЦА. УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ (TGFβ, F-βRII, FOXP3) TREG ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ИММУНОПАТОЛОГИЯХ (ОНКО – ОНКОБОЛЬНЫЕ, КРР – КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК, РЛ – РАК ЛЕГКОГО, АИЗ – АУТОИММУННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ, ВИ – ВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ) (К ТЕЗИСАМ ОЛЕЙНИКА Е.К. И ДР.)

	TGFβ	TGFβ-RII	FoxP3
Контроль (n = 12)	1,00±0,08	1,00±0,10	1,00±0,06
ОНКО (n = 21)	1,28±0,03*	1,13±0,05	1,45±0,10*
КРР (n = 10)	1,21±0,05*	1,05±0,08	1,22±0,10*
РЛ (n = 11)	1,34±0,04*	1,20±0,05	1,66±0,13*
АИЗ (n = 7)	1,11±0,15	0,97±0,20	1,02±0,10
ВИ (n = 14)	1,30±0,13*	0,98±0,11	1,25±0,12*

Примечание. * – различия между опытом и контролем достоверны, p < 0,05.

степенью дифференцировки. Среди больных с анеуплоидными новообразованиями полный эффект от проводимой химиотерапии достигнут в 97 (57,0%) наблюдениях, в то время как среди больных с диплоидными опухолями — у 46 (83,6%) пациенток ($p < 0,05$). Вместе с тем прогрессирование основного заболевания отмечено только у 4 (7,3%) больных с диплоидными опухолями, в то время как у каждой четвертой пациентки с анеуплоидными опухолями отмечено прогрессирование основного заболевания на фоне проводимого лечения — 44 (25,9%) больные. При сопоставлении отдаленных результатов лечения больных РЯ с количественными параметрами клеток опухолей оказалось, что среди 77 больных РЯ с диплоидными опухолями в течение 5 лет наблюдения были живы $66,8 \pm 6,6\%$ женщин, в то время как среди 232 пациенток с анеуплоидными опухолями — всего лишь $24,4 \pm 3,3\%$ больных ($p < 0,05$).

Заключение. Использование метода ДНК-проточной цитометрии показало, что злокачественные эпителиальные новообразования яичников отличаются между собой не только по своему клиническому течению, но и по количественным характеристикам клеток опухоли, что имеет большое значение для прогнозирования течения заболевания клиницистом и выработки индивидуальной лечебной тактики.

ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ СЕМЕЙНОГО ГЕМОФАГОЦИТАРНОГО ЛИМФОГИСТИОЦИТОЗА (FHL) И Х-СЦЕПЛЕННОГО ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНОГО СИНДРОМА (XLP) В ГРУППАХ РОССИЙСКИХ БОЛЬНЫХ

Полтавец Н.В.¹, Масчан М.А.², Забненкова В.В.¹, Поляков А.В.¹, Масчан А.А.², Новичкова Г.А.²

¹ Медико-генетический научный центр РАМН, Москва, Россия

² ФГУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии», Москва, Россия

Введение. Гемофагоцитарные лимфогистиоцитозы (ГЛГ) — группа заболеваний, основой патогенеза которых является патологическая активация и пролиферация макрофагальных клеток. Основными клиническими проявлениями являются лихорадка, гепатоспленомегалия и панцитопения. Наиболее частой генетически обусловленной аутосомно-рецессивной формой ГЛГ является FHL. Основой патогенеза FHL является нарушение цитотоксической функции NK- и Т-лимфоцитов. В настоящее время описаны три гена, мутации в которых проводят к FHL: PRF1 (FHL2), UNC13D (FHL3), STX11 (FHL4). Более редкой формой наследственных ГЛГ является XLP, Х-сцепленное заболевание, развивающееся вследствие нарушения иммунного ответа на вирус Эпштейна—Барр. Описаны два гена, мутации в которых приводят к развитию XLP: SH2D1A и BIRC4. В развернутой фазе заболевания FHL и XLP клинически практически неразличимы.

Цель: поиск мутаций в кодирующей последовательности генов, ответственных за развитие FHL и XLP в группах российских больных.

Материалы и методы. Клиническое обследование больных с направляющим диагнозом FHL и формирование выборки проводилось на базе Федерального научно-клинического центра детской гематологии, онкологии и иммунологии. Эту группу составили образцы крови 18 FHL пациентов (16 мальчиков и 2 девочки) с диагнозом, полностью соответствующим международным клиническим критериям HS 1991. Возраст манифестации заболевания составил $18,5 \pm 8$ месяцев (от 19 дней до 12 лет). Группу пациентов с направляющим диагнозом XLP составили 18 мальчиков, обследованных в различных клинических центрах России. ДНК выделяли с помощью набора DNA Prep 200 D1Atom™ из образцов периферической крови и мазков костно-мозговых пунтатов. Исследование кодирующих последовательностей генов проводили методом прямого автоматического секвенирования.

Результаты. Исследованы кодирующие области PRF1, UNC13D и STX11 во всех 18 образцах крови больных с направляющим диагнозом FHL. Мутации выявлены в 12 образцах. У одного пациента найдены 2 мутации в гене PRF1. У десяти пациентов найдены мутации в гене UNC13D, и у одного — в гене STX11. У трех пациентов выявлена только одна мутация в гетерозиготном положении, а оставшиеся девять либо являются носителями двух патологических мутаций, либо одной в гомозиготном состоянии. Среди выявленных мутаций 7 являются ранее не описанными. Среди мальчиков с направляющим диагнозом FHL, у которых не обнаружено мутаций в генах, ответственных за развитие FHL, выявлен один носитель мутации в гене SH2D1A, ответственном за развитие XLP. В группе больных с направляющим диагнозом XLP проведено исследование кодирующей последовательности генов SH2D1A и BIRC4, выявлено пять носителей мутаций в гене SH2D1A. В кодирующей последовательности гена BIRC4 мутаций не обнаружено ни в FHL, ни в XLP группах.

Выводы. Мутации в FHL группе выявлены на 21 из 34 исследованных хромосом (62%). Мутации в XLP группе обнаружены на 6 из 18 хромосом (30%).

ВЫЗЫВАЕМЫЕ ДЕКСАМЕТАЗОНОМ ИЗМЕНЕНИЯ ИММУНОФЕНОТИПА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ПРИ CD10-ПОЗИТИВНЫХ В-ЛИНЕЙНЫХ ОСТРЫХ ЛИМФОБЛАСТНЫХ ЛЕЙКОЗАХ У ДЕТЕЙ

Попов А.М., Вержбицкая Т.Ю., Цаур Г.А., Шориков Е.В., Савельев Л.И., Фечина Л.Г.

Областная детская клиническая больница № 1, г. Екатеринбург, Россия

ГУЗ Центр организации специализированных видов медицинской помощи институт медицинских клеточных технологий, г. Екатеринбург, Россия
Уральская государственная медицинская академия, г. Екатеринбург, Россия

Введение. Иммунофенотип опухолевых клеток изменяется под действием химиопрепаратов индукционной терапии, прежде всего кортикостероидов, что часто осложняет мониторинг минимальной остаточной болезни (MRD) методом проточной цитометрии. В настоящее время описаны лишь изменения иммунофенотипа,

вызванные преднизолоном, в то время как во многих протоколах лечения ALL, в том числе в российском протоколе ALL-MB, в качестве глюкокортикоида в индукционной терапии применяется дексаметазон.

Цель исследования: оценить изменения экспрессии опухолевыми клетками антигенов CD19, CD10, CD34, CD20, CD58, CD45, CD38 при CD10-позитивных ALL из В-линейных предшественников (BCP-ALL), происходящие во время индукционной терапии по протоколам ALL-MB 2002 и ALL-MB 2008.

Методы. В исследуемую группу вошли 24 MRD-позитивных пациента с первично диагностированным ВП-ALL в возрасте от 11 месяцев до 14 лет, получавшие индукционную терапию по протоколам ALL-MB 2002 и ALL-MB 2008. Исследовали 24 диагностических образца, 18 MRD-позитивных образцов 15-го дня терапии, а также 13 MRD-позитивных образцов 36-го дня терапии (окончание индукционной терапии). Среднюю интенсивность флуоресценции (MFI) в образцах 15-го или 36-го дня сравнивали со значением на момент диагностики того же пациента. Кроме того, сравнивали изменение распределения клеток на точечных графиках интенсивности флуоресценции, а также процентное содержание позитивных по данному маркеру опухолевых клеток на момент диагностики и во время терапии.

Результаты. В результате проведенного исследования было выявлено четыре типа изменения иммунофенотипа опухолевых клеток: повышение экспрессии маркеров, снижение экспрессии маркеров, изменение распределения клеток на графиках с гомогенного на гетерогенное, а также с гетерогенного на гомогенное. Среди пациентов, вошедших в группу исследования, у всех наблюдались повышение или снижение экспрессии маркеров, применяемых для мониторинга MRD. Основными тенденциями, выявленными в результате исследования, оказались снижение экспрессии CD10, CD58 и CD34, повышение экспрессии CD20 и CD45. Экспрессия CD38 и CD19 также часто изменялась, однако каких-либо закономерностей в случае этих маркеров выявить не удалось. Важно отметить, что изменялось не только количество молекул антигенов на мембране опухолевых клеток, но также и количество позитивных по данному маркеру бластов, что, в свою очередь, приводило к изменению распределения опухолевых клеток на точечных графиках. Таким образом, лейкозные бласты приближались по своему иммунофенотипу к зрелым лимфоцитам, с которыми их и приходится дифференцировать при мониторинге MRD во время индукционной терапии. И хотя различия в экспрессии антигенов между нормальными лимфоцитами и бластами чаще всего сохранялись, такое «созревание», естественно, усложняет мониторинг MRD. Зачастую на точечных графиках крайне сложно провести четкую границу между нормальными и опухолевыми клетками, что может приве-

сти к неточному подсчету содержания остаточных бластов в костном мозге. Важно отметить, что к 36-му дню экспрессия некоторых антигенов имела тенденцию к восстановлению, хотя и частичному. Тенденции, описанные для преднизолона, сохраняются и при применении дексаметазона, с той разницей, что экспрессия CD58, считавшаяся стабильной, также снижается, а некоторое восстановление экспрессии маркеров зачастую начинается быстрее. С другой стороны, значительное повышение как экспрессии CD20 опухолевыми клетками, так и количества CD20-позитивных бластов делает остаточные опухолевые клетки чувствительными к современному методам иммунотерапии.

Заключение. Изменения иммунофенотипа под воздействием дексаметазона во время индукционной терапии аналогичны таковым при применении преднизолона и серьезно осложняют мониторинг MRD методом точечной цитометрии.

ДИНАМИКА ПОПУЛЯЦИИ НКТ-КЛЕТОК В ПРОЦЕССЕ СТАНОВЛЕНИЯ РЕМИССИИ У БОЛЬНЫХ С В-КЛЕТОЧНЫМИ ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Розанова О.Е., Чубукина Ж.В., Глазанова Т.В., Павлова И.Е., Акинфиева О.В., Бубнова Л.Н.

Российский НИИ гематологии и трансфузиологии, Санкт-Петербург, Россия

В последние годы особое внимание исследователей уделяется популяции лимфоцитов, получивших название НКТ-клеток. Эти лимфоциты экспрессируют как маркеры НК-клеток (CD16, CD56), так и Т-клеточные дифференцировочные антигены (CD3, CD4, CD8) и, как полагают, вовлечены в регуляцию различных процессов при защите организма от патогенов, при аутоиммунных и опухолевых заболеваниях. Однако роль НКТ-клеток (их количество, динамика) в опухолевых заболеваниях лимфоидных тканей практически не изучено.

В связи с этим в задачу настоящего исследования входило изучить динамику НКТ-клеток в процессе специфического лечения В-клеточных лимфопролиферативных заболеваний (В-ЛПЗ).

Материалы и методы. Обследовано 126 больных В-ЛПЗ в динамике противоопухолевой терапии (флюдарабин-содержащие режимы), которые по мере нормализации уровня Т-клеток были разделены на две группы: 1-я (76 человек) с относительным содержанием CD3⁺ клеток в периферической крови > 55% (нижняя граница нормы), 2-я (50 человек), в которой содержание CD3⁺ клеток было менее 55%. Иммунологический фенотип лимфоцитов определяли методом двухпараметрической проточной цитометрии («Beckman Coulter» FC500)

ТАБЛИЦА (К ТЕЗИСАМ РОЗАНОВОЙ О.Е. И ДР.)

Группа	CD3 ⁺	CD4 ⁺ /CD3 ⁺	CD8 ⁺ /CD3 ⁺	CD19 ⁺	CD16/56 ⁺ /CD3 ⁺	НКТ
1	76,8±6,2	33,3±4,5	38,9±5,3	5,9±1,3	13,2±3,6	10,6±2,1
2	29,7±3,4	13,0±3,1	16,9±2,9	50,1±5,2	13,6±4,0	3,9±0,9
P ₁₋₂	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	> 0,05	< 0,001

с использованием моноклональных антител «Beckman Coulter», США.

Полученные результаты представлены в таблице.

Известно, что В-ЛПЗ изначально характеризуются выраженным доминированием экспрессии В-клеточных маркеров и редукцией Т-клеточного клона. Как следует из представленных в таблице данных, в процессе достижения ремиссии на фоне снижения уровня В-лимфоцитов (CD19⁺) и нормализации содержания CD3⁺ клеток отмечалась сохраняющаяся инверсия соотношения иммунорегуляторных субпопуляций Т-клеток (соотношение CD4⁺ и CD8⁺ составило 0,85 и 0,77 соответственно для 1-й и 2-й групп). При этом существенно повышался уровень NKT-клеток. Особо следует подчеркнуть, что при достижении ремиссии количество NKT-клеток превышало нормальный уровень (4,8%) более чем в 2 раза. Также представляют интерес полученные нами данные о возрастании в ремиссии содержания CD3⁺/HLA-DR⁺ лимфоцитов (10,6 и 4,3% в 1-й и 2-й группе соответственно, при норме 1,8%), подтверждающие появление клона активированных Т-клеток.

Заключение. Таким образом, становление клинко-гематологической ремиссии у больных В-ЛПЗ сопровождается достоверным ростом популяции NKT-клеток и других активированных Т-лимфоцитов.

ЗАВИСИМОСТЬ СОСТОЯНИЯ ИММУННОГО СТАТУСА И МЕТАБОЛИЗМА ЛИМФОЦИТОВ ОТ МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ ПРИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ЛЕГКОГО

Савченко А.А., Дыхно Ю.А., Лапешин П.В.

НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН, Красноярский государственный медицинский университет, г. Красноярск, Россия

Метастазы злокачественных опухолей значительно осложняют течение заболевания. При этом метастазирование развивается не только на поздних стадиях развития опухоли, но в ряде случаев уже на ранних стадиях заболевания метастазы обнаруживаются в региональных лимфоузлах. Особенно актуальны исследования иммунных механизмов при метастазировании у больных раком легкого. Связано это с тем, что в настоящее время рак легкого занимает первое место в структуре онкологических заболеваний в России, причем значительную часть больных выявляют уже на IV стадии заболевания, то есть в условиях метастазирования опухоли.

Цель исследования: изучить состояния иммунной системы и метаболизма лимфоцитов крови у больных раком легкого в зависимости от метастазирования опухоли.

Материалы и методы. На базе торакального отделения Красноярского краевого онкологического центра обследовано 126 больных мужского пола с раком легкого. Кровь на исследование забиралась на следующий день после поступления. Наличие метастазов в лимфоузлах корня легкого определяли гистологическим методом. в качестве контроля обследовано 106 здоровых мужчин. Фенотип лимфоцитов крови оценивали с помощью метода непрямой иммунофлуоресценции. Концентрацию иммуноглобулинов класса в сыворотке определяли методом иммунодиффузии. Определение активности деги-

дрогеназ в лимфоцитах проводили биоломинесцентным методом.

Результаты. При исследовании состояния клеточного иммунитета у больных раком легкого в зависимости от метастазирования обнаружено значительное сходство изменений величин исследуемых показателей относительно контроля в группах больных без метастазов и с метастазами в лимфоузлы. Так, независимо от метастазирования в лимфоузлы у больных мужчин повышается концентрация лейкоцитов в периферической крови, снижается относительный уровень общих лимфоцитов, понижается относительное и абсолютное содержание CD3⁺ и CD4⁺ клеток. Кроме того, также независимо от метастазирования у больных относительно контрольных значений у больных повышается относительная концентрация CD16⁺ лимфоцитов и процентный и абсолютный уровень CD72⁺ и HLA-DR⁺-клеток. Только у больных с метастазированием в лимфоузлы понижается относительная и абсолютная концентрация CD8⁺-лимфоцитов. Независимо от метастазирования у больных мужчин относительно контрольных значений повышается концентрация IgA и снижается уровень IgG и ЦИК в сыворотке крови. Также независимо от метастазирования в лимфоузлы снижается уровни относительного синтеза IgA, IgM и IgG. Однако только у больных раком легкого с метастазированием в лимфоузлы корня легкого статистически достоверно повышается сывороточная концентрация IgM. При исследовании состояния метаболического статуса иммунокомпетентных клеток крови у больных раком легкого обнаружены более выраженные особенности в зависимости от метастазирования в лимфоузлы. Так, только у больных мужчин без метастазирования в лимфоцитах крови статистически достоверно снижается активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и повышается уровень глутатионредуктазы. Только у больных раком легкого с метастазированием повышается активность НАДФН-зависимой глутаматдегидрогеназы. Активность изоцитратдегидрогеназы и глутаматдегидрогеназы снижены у больных раком легкого относительно контрольных диапазонов, однако у больных без метастазирования понижение активности данных ферментов в лимфоцитах крови более выражено, чем у больных с метастазированием в лимфоузлы. Независимо от метастазирования снижается внутриклеточная активность малик-фермента, глицерол-3-фосфатдегидрогеназы и малатдегидрогеназы.

Заключение. Состояние иммунного статуса у больных раком легкого определяется как иммунодефицитное и практически не зависит от отсутствия или наличия метастазов в лимфоузлах корня легкого. При исследовании метаболического статуса лимфоцитов крови обнаружены изменения, характерные для больных раком легкого вообще и специфические для групп больных с отсутствием и наличием метастазов в лимфоузлах. Наиболее выраженными общими особенностями метаболизма лимфоцитов при раке легкого является ингибирование анаэробных процессов и разбалансировка ферментативных реакций цикла трикарбоновых кислот. Различия в метаболических реакциях лимфоцитов у больных при отсутствии и наличии метастазирования опухоли определяются уровнем пластических и антиоксидантных реакций.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОСТРЫХ ЛЕЙКОЗОВ**Смирнова О.В., Савченко А.А.***НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН,
г. Красноярск, Россия*

Целью настоящего исследования явилось изучение особенностей клеточного и гуморального звеньев иммунитета у больных ОНЛЛ и у больных ОЛЛ в зависимости от стадии заболевания.

Материалы. Всего под наблюдением находились 100 больных ОНЛЛ с М2 вариантом и 73 больных ОЛЛ с пре-пре-В вариантом. У 30 больных ОНЛЛ и 25 больных ОЛЛ заболевание было выявлено в стадии первичной атаки, у 49 больных ОНЛЛ и 26 больных ОЛЛ — в стадии полной ремиссии после проведенного лечения, и у 21 больных ОНЛЛ и 22 больных ОЛЛ — в стадии повторного рецидива. В качестве контроля обследованы 120 здоровых лиц аналогичного возраста. Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов крови оценивали с помощью метода непрямой иммунофлуоресценции с использованием моноклональных антител к CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, HLA-DR. Концентрация иммуноглобулинов класса А, М и G в сыворотке определяли иммуноферментным методом. Оценка клеточного и гуморального иммунитета проводилась при поступлении больных до начала патогенетического лечения. Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей (C_{25} и C_{75}). Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по критерию Манна–Уитни. Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных программ «Statistica 7.0» (StatSoft Inc., 2004).

Результаты. Состояние клеточного иммунитета у больных ОНЛЛ при первичной атаке характеризуется снижением процентной концентрации Т-клеток и CD4⁺ лимфоцитов, на стадии ремиссии — снижением абсолютного количества лейкоцитов, абсолютного и относительного содержания Т, CD4⁺, цитотоксических лимфоцитов, NK-клеток, абсолютного количества В-лимфоцитов и лимфоидных клеток, экспрессирующих маркер HLA-DR. При рецидиве ОНЛЛ состояние клеточного иммунитета характеризуется снижением абсолютного количества лейкоцитов и лимфоцитов в крови, относительного и абсолютного содержания Т, CD4⁺, NK-клеток и абсолютного количества цитотоксических лимфоцитов и клеток, экспрессирующих маркер HLA-DR. При исследовании состояния гуморального звена иммунной системы обнаружено, что на стадии первой атаки заболевания никаких отклонений от нормы нет. При ремиссии выявлено снижение концентрации IgG в крови. При рецидиве снижаются в крови концентрации всех исследуемых иммуноглобулинов: IgA, IgM, IgG. Состояние клеточного иммунитета у больных ОЛЛ на стадии атаки характеризуется повышением абсолютного содержания лимфоцитов и снижением процентной концентрации Т-клеток. При ремиссии ОЛЛ на фоне снижения процентного и абсолютного содержания лимфоцитов в крови понижаются относительное и абсолютное количество Т-лимфоцитов, абсолютный уровень NK-клеток, В-лимфоцитов и лимфоидных клеток, экспрессирующих маркер HLA-DR. Популяция NK-клеток является основной в системе за-

щиты от малигнизированных клеток, и снижение их содержания на стадии ремиссии может быть одной из серьезных причин развития рецидива заболевания [Wu J., Lanier L.L., 2003]. Снижение количества Т-лимфоцитов у больных происходит за счет понижения в процентном и абсолютном содержании CD4⁺ и цитотоксических Т-лимфоцитов. Единственным показателем иммунного статуса, величина которого восстанавливается при ремиссии ОЛЛ, является иммунорегуляторный индекс. При рецидиве ОЛЛ большинство исследуемых параметров иммунного статуса восстанавливается до контрольного уровня. На данной стадии патологического процесса сохраняется только снижение относительного содержания Т-лимфоцитов. При исследовании состояния гуморального звена иммунной системы обнаружено, что на стадии первой атаки заболевания никаких отклонений от нормы нет. При ремиссии заболевания установлено выраженное снижение концентрации IgA и IgG. При рецидиве ОЛЛ сохраняется понижение в содержании IgA, до уровня нормы восстанавливается уровень IgG в сыворотке крови и понижается концентрация IgM.

Заключение. Проведенное нами исследование выявило, что у больных ОНЛЛ на стадии рецидива развивается комбинированный иммунодефицит с поражением Т- и В-систем иммунитета. Снижение соотношения CD4⁺ клеток к цитотоксическим лимфоцитам способствует появлению первичной атаки у больных ОЛЛ. Особенностью рецидива ОЛЛ является увеличение количества NK-клеток. Возникшие Т-иммунодефициты во время ремиссии ОНЛЛ и ОЛЛ имеют одинаковый характер, так как обусловлены идентичной причиной возникновения. Данные иммунодефициты возникли после проведенного курса химиотерапии у больных.

ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ НЕЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ**Смирнова О.В., Савченко А.А.***НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН,
г. Красноярск, Россия*

Уровень иммунореактивности определяется не только морфологическим составом клеток иммунной системы и концентрацией иммуноглобулинов в сыворотке крови, но и уровнем метаболических процессов в них, которые в значительной степени определяют функциональную активность иммуноцитов.

Целью исследования явилось изучение особенностей метаболического статуса лимфоцитов крови у больных ОНЛЛ в зависимости от стадии заболевания.

Материалы и методы. Всего под наблюдением находились 100 больных ОНЛЛ с иммунофенотипическим вариантом М4. У 30 больных заболевание было выявлено в стадии первичной атаки, у 49 — в стадии полной ремиссии после проведенного лечения, и у 21 — в стадии повторного рецидива. В качестве контроля обследовано 120 здоровых лиц аналогичного возраста. Определение активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови проводилось биOLUMИнесцентным методом при поступлении больных до начала патогенетического лечения. Данным методом определялась активность

следующих ферментов: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (ГЗФДГ), малик-фермента (НАДФМДГ), НАД- и НАДН-зависимой реакции лактатдегидрогеназы (ЛДГ и НАДН-ЛДГ), НАД- и НАДН-зависимой реакции малатдегидрогеназы (МДГ и НАДН-МДГ), НАДФ- и НАДФН-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАДФГДГ и НАДФН-ГДГ), НАД- и НАДН-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАДГДГ и НАДН-ГДГ), НАД- и НАДФ-зависимых изоцитратдегидрогеназ (НАДИЦДГ и НАДФИЦДГ соответственно) и глутатионредуктазы (ГР). Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей (C25 и C75). Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по критерию Манна–Уитни. Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных программ «Statistica 7.0» (StatSoft Inc., 2004).

Результаты. При исследовании состояния метаболического статуса лимфоцитов крови у больных ОНЛЛ установлено, что активность ГЗФДГ снижена относительно контроля и показателей при ремиссии заболевания, у больных при рецидиве. Активность ферментов ЛДГ, НАДФИЦДГ, МДГ, НАДИЦДГ снижена относительно контроля у всех групп больных. Активность НАДН-ЛДГ снижена относительно контроля у больных при атаке и рецидиве ОНЛЛ. Активность фермента ГР снижена относительно контроля у больных при атаке и ремиссии, у больных при рецидиве активность данного фермента достоверно выше, чем у больных оставшихся групп. У больных при атаке и ремиссии ОНЛЛ выявляется снижение интенсивности терминальных реакций гликолиза и уровень концентрации интермедиатов для цикла Кребса. Ингибирование реакций цикла Кребса не связано с оттоком субстратов на реакции аминокислотного обмена. Особенностью метаболизма лимфоцитов крови у больных данной группы является снижение перекисных процессов в клетках крови, при возможности реагирования их внутриклеточных антиоксидантных систем.

У больных при рецидиве ОНЛЛ снижается интенсивность переноса продуктов липидного катаболизма на окислительно-восстановительные реакции гликолиза. Подобное состояние реакций приводит к ингибированию гликолиза на терминальных реакциях. В митохондриальный компартмент этих больных поступает пониженное количество пирувата, что приводит к нарушению ферментативных реакций цикла трикарбоновых кислот. Особенностью метаболизма клеток иммунной системы у больных данной группы является повышение перекисных процессов в клетках крови и возможность реагирования внутриклеточных антиоксидантных систем.

Заключение. У больных ОНЛЛ на всех стадиях заболевания регистрируются нарушения метаболического статуса лимфоцитов крови. Изменения этого статуса во многом определяют функциональную активность этих клеток и опосредованно влияют на возникновение и прогрессирование заболевания. Проведенное нами исследование активности метаболических ферментов лимфоцитов показало, что у всех больных ОНЛЛ вне зависимости от стадии заболевания в лимфоцитах выявляется функциональная недостаточность, проявляющаяся уменьшением интенсивности метаболических процессов и снижением антиоксидантной защиты клеток, однако в стадии атаки и ремиссии нарушения метаболизма в основном затра-

гивают углеводный обмен, а при рецидиве — углеводный и жировой обмены. Таким образом, изменения, возникающие у больных ОНЛЛ при рецидиве, свидетельствуют об истощении метаболических резервов лимфоцитов.

ИЗМЕНЕНИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ ЛЕЙКОЗАМИ

Смирнова О.В., Манчук В.Т.

*НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН,
г. Красноярск, Россия*

Целью исследования явилось изучение особенностей состояния метаболических параметров лимфоцитов крови у больных ХМЛ и ХЛЛ в зависимости от стадии заболевания.

Материалы и методы. Всего под наблюдением находилось 44 больных ХМЛ и 57 больных ХЛЛ. У 20 больных ХМЛ и 32 больных ХЛЛ заболевание диагностировалось в развернутую стадию, а у 24 ХМЛ и 25 ХЛЛ — в терминальную стадию. В качестве контроля обследовано 120 здоровых лиц аналогичного возраста. Определение активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови проводилось биолюминесцентным методом при поступлении больных до начала патогенетического лечения. Данным методом определялась активность следующих ферментов: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (ГЗФДГ), малик-фермента (НАДФМДГ), НАД- и НАДН-зависимой реакции лактатдегидрогеназы (ЛДГ и НАДН-ЛДГ), НАД- и НАДН-зависимой реакции малатдегидрогеназы (МДГ и НАДН-МДГ), НАДФ- и НАДФН-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАДФГДГ и НАДФН-ГДГ), НАД- и НАДН-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАДГДГ и НАДН-ГДГ), НАД- и НАДФ-зависимых изоцитратдегидрогеназ (НАДИЦДГ и НАДФИЦДГ соответственно) и глутатионредуктазы (ГР). Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей (C25 и C75). Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по критерию Манна–Уитни. Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных программ «Statistica 7.0» (StatSoft Inc., 2004).

Результаты: при исследовании состояния метаболического статуса лимфоцитов крови у больных ХМЛ установлено, что на всех стадиях заболевания снижается активность ферментов Г6ФДГ, ЛДГ, НАДФИЦДГ, НАДИЦДГ, ГР. У больных в развернутой стадии ХМЛ дополнительно снижается активность МДГ, НАДН-ЛДГ. У больных в терминальной стадии снижается активность фермента ГЗФДГ. У больных в развернутой стадии ХМЛ снижена интенсивность гликолиза на терминальных стадиях и уменьшен уровень концентрации интермедиаторов для цикла трикарбоновых кислот. Снижена интенсивность субстратного потока по лимонному циклу. У этих больных имеется недостаточность метаболических реакций митохондриального компартмента. Особенностью метаболизма лимфоцитов крови у больных является снижение перекисных процессов в клетках крови. В терминальную стадию ХМЛ в лимфоцитах крови снижены пластические процессы, интенсивность переноса продуктов липидного

катаболизма на окислительно-восстановительные реакции гликолиза. Гликолиз ингибирован на начальных реакциях. Снижена наработка пирувата в гликолизе, ингибированы ферментативные реакции цикла трикарбоновых кислот. Имеется недостаточность метаболических реакций митохондриального компартмента и снижены перекисные процессы в лимфоцитах.

При исследовании состояния метаболического статуса лимфоцитов крови у больных ХЛЛ установлено, что на всех стадиях заболевания снижается активность ферментов ЛДГ, НАДФИЦДГ, МДГ, НАДИЦДГ, НАДН-ЛДГ. У больных в развернутой стадии ХЛЛ дополнительно снижается активность НАДГДГ, а у больных в терминальной стадии — ГЗФДГ, НАДФМДГ, НАДН-МДГ, НАДН-ГДГ. У больных в развернутую стадию ХЛЛ снижена интенсивность гликолиза и уменьшен уровень концентрации интермедиаторов для цикла трикарбоновых кислот. При этом ингибирование ферментативных реакций гликолиза в лимфоцитах крови больных осуществляется на терминальных реакциях. Снижена интенсивность субстратного потока по лимонному циклу. У больных в развернутой стадии имеются недостаточность митохондриального транспорта и нарушения взаимосвязей между реакциями цикла Кребса и процессами аминокислотного обмена. У больных в терминальной стадии ХЛЛ снижена интенсивность переноса продуктов липидного катаболизма на окислительно-восстановительные реакции гликолиза, ингибированы процессы липидного анаболизма, гликолиз. Снижена наработка пирувата в гликолизе, что, ингибирует ферментативные реакции цикла трикарбоновых кислот. Снижена интенсивность субстратного потока по лимонному циклу. Недостаточность метаболических реакций митохондриального компартмента также определяется снижением активности вспомогательной дегидрогеназной реакции и нарушением взаимосвязей между реакциями цикла Кребса и процессами аминокислотного обмена.

Заключение. У всех больных ХМЛ и ХЛЛ наблюдается уменьшение интенсивности метаболических процессов в лимфоцитах. По мере прогрессирования заболевания увеличиваются метаболические нарушения, так в развернутой стадии ХМЛ и ХЛЛ изменения только в углеводном обмене, то в терминальной стадии — в углеводном и жировом обменах.

ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОЧНОГО И ГУМОРАЛЬНОГО ЗВЕНЬЕВ ИММУНИТЕТА БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ ЛЕЙКОЗАМИ

Смирнова О.В., Манчук В.Т.

*НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН,
г. Красноярск, Россия*

Целью исследования явилось изучение особенностей клеточного и гуморального звеньев иммунитета у больных ХМЛ и у больных ХЛЛ в зависимости от стадии заболевания.

Материалы и методы. Всего под наблюдением находилось 44 больных ХМЛ и 57 больных ХЛЛ. У 20 больных ХМЛ и 32 больных ХЛЛ заболевание диагностировалось в развернутую стадию, а у 24 ХМЛ и 25 ХЛЛ — в терминальную стадию. В качестве контроля обследовано

120 здоровых лиц аналогичного возраста. Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов крови оценивали с помощью метода непрямой иммунофлуоресценции с использованием моноклональных антител к CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, HLA-DR. Концентрация иммуноглобулинов класса А, М и G в сыворотке определяли иммуноферментным методом. Оценка клеточного и гуморального иммунитета проводилась при поступлении больных до начала патогенетического лечения. Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей (C25 и C75). Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по критерию Манна-Уитни. Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных программ «Statistica 7.0» (StatSoft Inc., 2004).

Результаты. У больных в развернутой стадии ХМЛ снижаются относительные уровни Т-лимфоцитов, CD4⁺ клеток, цитотоксических лимфоцитов, повышаются относительное и абсолютное содержания В-лимфоцитов и абсолютное количество лимфоцитов, экспрессирующих HLA-DR-антиген. У больных снижаются лейко-В-клеточный коэффициент и иммунорегуляторный индекс. При исследовании состояния гуморального звена иммунной системы у больных в развернутой стадии обнаружено снижение уровней относительного синтеза IgA и IgM.

У больных в терминальной стадии ХМЛ обнаружено снижение абсолютных количеств лейкоцитов и лимфоцитов в крови, относительных и абсолютных уровней Т-лимфоцитов, CD4⁺ клеток, и абсолютных количеств цитотоксических лимфоцитов, NK-клеток, В-лимфоцитов и лимфоцитов, экспрессирующих HLA-DR антиген, и повышение относительного уровня В-лимфоцитов. у больных снижен лейко-В-клеточный коэффициент. При исследовании состояния гуморального звена иммунной системы у больных в терминальной стадии обнаружено снижение в крови концентрации IgA и IgM.

У больных в развернутой стадии ХЛЛ повышаются абсолютные количества лейкоцитов, лимфоцитов, Т-лимфоцитов, CD4⁺ клеток, цитотоксических лимфоцитов, NK-клеток, В-лимфоцитов и лимфоцитов, продуцирующих HLA-DR⁺ антиген, относительные концентрации лимфоцитов в крови, В-лимфоцитов, снижаются относительные уровни Т-лимфоцитов, CD4⁺ клеток, цитотоксических лимфоцитов. В развернутой стадии ХЛЛ снижается лейко-В-клеточный коэффициент. При исследовании состояния гуморального звена иммунной системы у больных в развернутой стадии обнаружено снижение концентрации IgA, IgG и индексов относительного синтеза IgA, IgM, IgG.

У больных в терминальной стадии ХЛЛ повышаются относительные уровни лимфоцитов, В-лимфоцитов, абсолютный уровень В-лимфоцитов, снижаются относительные показатели Т-лимфоцитов, CD4⁺ клеток, цитотоксических лимфоцитов. В терминальную стадию снижаются лейко-Т-клеточный, лейко-В-клеточный коэффициенты и индекс активации Т-лимфоцитов. При исследовании состояния гуморального звена иммунной системы у больных в терминальную стадию обнаружено снижение концентрации IgA, IgM, IgG и индексов относительного синтеза IgA, IgM, IgG.

Заключение. Выявленные изменения иммунного статуса и метаболизма лимфоцитов оказывают значительную роль не только в появлении, но и в прогрессировании

заболевания. У больных ХМЛ в развернутую, и в терминальную стадии развивается Т-иммунодефицит. Особенностью терминальной стадии больных ХМЛ является снижение содержания НК-клеток и В-лимфоцитов. У больных ХЛЛ в развернутую стадию развивается состояние, характеризующееся повышением содержания Т-, В-лимфоцитов и НК-клеток. Особенностью терминальной стадии ХЛЛ является развивающийся комбинированный иммунодефицит с поражением Т- и В-систем иммунитета.

ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ М4 И М5 ВАРИАНТОВ ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА

Сухина И.А., Никитин В.Ю., Цыган В.Н.,
Иванов А.М., Зюзгин И.С.

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова,
Санкт-Петербург, Россия

Введение. М4 и М5 варианты острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) довольно сложно дифференцировать друг от друга. Оба этих типа ОМЛ характеризуются полиморфным иммунофенотипом и экспрессируют антигены свойственные гранулоцитарной и моноцитарной линиям. Изучение соотношения экспрессируемых антигенов каждого из вариантов может помочь провести дифференциальную диагностику между ними.

Цель: для дифференциальной диагностики между М4 и М5 вариантами ОМЛ выявить их иммунофенотипические особенности.

Задачи. 1. Определить количественный состав клеток, экспрессирующих антигены гранулоцитарной и моноцитарной линий у больных с ОМЛ-М4 и ОМЛ-М5. 2. Провести сравнительный анализ между М4 и М5 вариантами ОМЛ по количеству клеток, экспрессирующих сходные антигены. 3. Определить иммунофенотип характерный для каждого варианта. 4. Выявить наиболее информативные маркеры для дифференциальной диагностики М4 и М5 вариантов ОМЛ.

Материалы и методы. У 8 пациентов с окончательным диагнозом ОМЛ-М4 и у 9 пациентов с ОМЛ-М5 был проведен статистический анализ результатов иммунофенотипирования костного мозга. Необходимо отметить, что из 9 больных с М5 6 человек (66,7%) имели ОМЛ-М5b вариант, 1 человек — ОМЛ-М5а и 2 человека — неопределенный вариант ОМЛ-М5. Иммунофенотипирование выполнялось на проточном цитометре «FacsScan» фирмы «Becton Dickinson» с использованием следующих комбинаций прямых моноклональных антител той же фирмы: CD45/CD14, IgG1/IgG2/CD45, CD5/CD7/CD45, CD10/CD20/CD45, CD34/CD117/CD45, CD13/CD33/CD45, CD16*56/CD45, CD3/CD19/CD45, HLA-DR/CD11b/CD45, HLA-DR/CD11c/CD45, CD65/CD4/CD45, CD36/CD2/CD45, CD61/CD235a, cyTdT, cyMPO.

Результаты. Сравнительный анализ с применением t-критерия Стьюдента показал, что варианты ОМЛ-М4 и ОМЛ-М5 статистически значимо отличались по количеству клеток, экспрессирующих CD34 ($42,7 \pm 10,6$ и $9,3 \pm 5,6\%$; $p < 0,05$), CD117 ($46 \pm 6,2$ и $15,7 \pm 4,7\%$; $p < 0,001$), cyMPO ($56,9 \pm 13,4$ и $15,8 \pm 4,4\%$; $p < 0,01$), CD14 ($10,0 \pm 4,8$ и $31,5 \pm 4,6\%$; $p < 0,01$), CD11b ($34,0 \pm 7,9$

и $62,0 \pm 7,5\%$; $p < 0,05$), CD11c ($37,6 \pm 8,2$ и $80,0 \pm 8,2\%$; $p < 0,01$), CD36 ($23,2 \pm 5,5$ и $70,9 \pm 7,3\%$; $p < 0,001$) и CD65 ($12,3 \pm 4,9$ и $42,4 \pm 10,2\%$; $p < 0,05$). Из этих данных видно, что при ОМЛ-М4 средние значения относительного содержания CD34⁺, CD117⁺, cyMPO⁺ клеток были выше, чем при ОМЛ-М5, и, напротив, при ОМЛ-М5 были выше средние значения относительного числа CD14⁺, CD11b⁺, CD11c⁺, CD36⁺ и CD65⁺ клеток. Анализ частоты встречаемости этих маркеров показал, что CD34 экспрессируется у 75% больных с ОМЛ-М4 и у 22% с ОМЛ-М5, CD117 — у 100% больных с ОМЛ-М4 и у 32% с ОМЛ-М5, cyMPO — у 100% больных с ОМЛ-М4 и у 56% с ОМЛ-М5, CD14 — у 25% больных с ОМЛ-М4 и у 100% с ОМЛ-М5, CD11b — у 75% больных с ОМЛ-М4 и у 100% с ОМЛ-М5, CD11c — у 80% больных с ОМЛ-М4 и у 100% с ОМЛ-М5, CD36 — у 69% больных с ОМЛ-М4 и у 100% с ОМЛ-М5, CD65 — у 17% больных с ОМЛ-М4 и у 64% с ОМЛ-М5. Из результатов анализа также видно, что при ОМЛ-М4 чаще наблюдается позитивность по CD34⁺, CD117⁺, cyMPO⁺, тогда как вариант ОМЛ-М5 чаще позитивен по CD14⁺, CD11b⁺, CD11c⁺, CD36⁺ и CD65⁺ антигенам. По количеству клеток, экспрессирующих антигены CD13 (у 88% больных с ОМЛ-М4 и у 100% с ОМЛ-М5), CD33 (у 100% больных с ОМЛ-М4 и у 100% с ОМЛ-М5), HLA-DR (у 88% больных с ОМЛ-М4 и у 100% с ОМЛ-М5), CD16*56 (у 60% больных с ОМЛ-М4 и у 75% с ОМЛ-М5), CD4 (у 20% больных с ОМЛ-М4 и у 28% с ОМЛ-М5) различий не было обнаружено.

Заключение. Таким образом, для ОМЛ-М4 характерен иммунофенотип: CD13⁺⁺/CD33⁺⁺⁺/HLA-DR⁺⁺/CD16*56⁺/CD4⁺/CD34⁺⁺/CD117⁺⁺⁺/cyMPO⁺⁺⁺/CD14⁺/CD11b⁺⁺/CD11c⁺⁺/CD36⁺/CD65^{+/-}, где (+/-) 10-25% позитивных лейкозов; (+) 25-70% позитивных лейкозов; (++) 70-90% позитивных лейкозов; (+++) 90-100% позитивных лейкозов, а для ОМЛ-М5: CD13⁺⁺⁺/CD33⁺⁺⁺/HLA-DR⁺⁺⁺/CD16*56⁺⁺/CD4⁺/CD34^{+/}/CD117⁺/cyMPO⁺/CD14⁺⁺⁺/CD11b⁺⁺⁺/CD11c⁺⁺⁺/CD36⁺⁺⁺/CD65⁺⁺⁺. Наиболее информативными для дифференциальной диагностики М4 и М5 вариантов ОМЛ являются CD34, CD117, cyMPO (выше у ОМЛ-М4), CD14, CD11b, CD11c, CD36 и CD65 (выше у ОМЛ-М5) антигены.

АКТИВНОСТЬ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ИММУНИТЕТА У ЖЕНЩИН С ПРЕДРАКОМ И РАКОМ ШЕЙКИ МАТКИ, АССОЦИИРОВАННЫМ С ВИРУСОМ ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА, В ЧЕЛЯБИНСКОЙ ОБЛАСТИ

Телешева Л.Ф., Батурина И.Л., Орнер И.Ю.,
Абрамовских О.С.

НИИ иммунологии ГОУ ВПО «ЧелГМА Росздрава»,
г. Челябинск, Россия

Введение. Точка зрения о сущности противоопухолевого иммунитета в настоящее время изменилась. Ранее за основу противоопухолевого иммунитета была взята теория Т-клеточного надзора (по типу отторжения трансплантата). Сейчас большинство иммунологов придерживается концепции иммунного надзора Ф.М. Бернета, согласно которой противоопухолевый иммунитет формируется за счет механизмов естественного и адаптивного иммунитета (по типу защиты от вирусов и других микроорганизмов). Иммунная система осуществляет контроль

за генетической целостностью организма, за его соматическими клетками, в случае появления измененных клеток они элиминируются из организма. Опухоли, вызванные вирусами, несут вирусные антигены — «опухолеассоциированные трансплантационные антигены». У человека лишь 3 ДНК-вируса тесно связаны с опухолями: вирус Эпштейна—Барр, вызывающий лимфому Беркитта, герпесвирус 8 типа, вызывающий саркому Капоши и вирус папилломы человека (ВПЧ) [Киселев В.И., 2007].

Цель: определить активность противоопухолевого иммунитета у женщин с предраком и раком шейки матки, ассоциированным с вирусом папилломы человека, в Челябинской области.

Материалы и методы. В НИИ иммунологии Челябинской медицинской академии и Областном онкологическом диспансере г. Челябинска проведено комплексное обследование 90 женщин с заболеваниями шейки матки, ассоциированными с ВПЧ, средний возраст которых от 18 до 55 лет. Оценка противоопухолевой реактивности проводилась по содержанию в периферической крови CD8⁺, CD16⁺ лимфоцитов [Arai E., 1997], клеток, демонстрирующих готовность к апоптозу — наличием Fas(CD95)-рецептора [Nevala H. et al., 2001], методом иммунофенотипирования. Для детекции ДНК ВПЧ использовали метод полимеразной цепной реакции. Все пациенты разделены на 5 групп в зависимости от диагноза. Первая группа — практически здоровые лица — 10 человек, средний возраст 33,9±0,6. Вторая группа — 10 человек с диагнозом персистирующая папилломавирусная инфекция, средний возраст 28,1±8,0. Третья — 20 человек с диагнозом тяжелая цервикальная интраэпителиальная неоплазия (CIN3) — 32,2±1,60 года. Четвертая — 20 пациенток с диагнозом cancer in situ и микроинвазивным раком (T1NxMx), 35,9±2,15 года. Пятая — 30 человек с метастазировавшими формами рака шейки матки (рак шейки матки 2 и 3 стадии), 44,2±1,8 лет.

Результаты. Ранние проявления патологии шейки матки (группа 2) сопровождалась сохранением нормальной или повышенной численности CD8⁺, CD16⁺ и CD95⁺ лимфоцитов. Процентное снижение вышеперечисленных кластеров дифференцировки и начало угнетения противоопухолевого иммунитета отмечалось при переходе тяжелой интраэпителиальной неоплазии (группа 3) в микроинвазивный рак шейки матки (группа 4). При II и III опухолевой стадии (группа 5) абсолютная численность в периферической крови всех клеточных популяций, обладающих противоопухолевой активностью, снижалась по сравнению с таковой во 2, 3, 4 группах (CD8⁺ лимфоцитов в 1,6 раза, CD16⁺ — 1,8 раза, CD95⁺ — 1,4 раза).

Выводы. Оценивая состояние противоопухолевой реактивности в исследуемых группах, определили, что уже на стадии персистирующей ВПЧ-инфекции, отмечается повышенная экспрессия лимфоцитами рецепторов CD8⁺, CD16⁺, CD95⁺, свидетельствующая об адекватной активации системы противоопухолевого надзора. Хочется отметить, что, именно, при переходе ЦИН 3 в микроинвазивный рак наблюдается угнетение противоопухолевого иммунитета. Таким образом, снижение CD8⁺, CD16⁺, CD95⁺ является плохим прогностическим признаком и свидетельствует о начале опухолевой трансформации.

ВЗАИМОСВЯЗЬ РАКА КОЖИ С HLA-АНТИГЕНАМИ 1 КЛАССА В УЗБЕКСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Холиков Т.Ж., Мирахмедова Н.Н.

Республиканский онкологический научный центр МЗ РУз, г. Ташкент, Республика Узбекистан
Институт иммунологии АН РУз, г. Ташкент, Республика Узбекистан

Из литературных данных известно, что определенную роль в развитии рака кожи имеют генетические факторы. В связи с этим целью настоящего исследования явилось изучение распределения HLA-антигенов 1 класса у 50 больных раком кожи. Все больные были лицами узбекской национальности, не состоящими в кровном родстве.

Контрольную группу составили практически здоровые лица в количестве 301 человека. Типирование HLA-антигенов проводилось стандартным 2-ступенчатым микролимфоцитотоксическим тестом с применением лиофилизированного кроличьего комплемента. В работе использовалась панель гистотипирующих антилейкоцитарных HLA-антисывороток (Санкт-Петербург, РФ). В ходе типирования экспрессировалось 38 HLA-антигенов А, В и С локусов. Сравнительный анализ распределения антигенов выявил ряд особенностей. В группе больных наиболее часто встречались следующие антигены: HLA-A25 (22% против 0,7% в контроле), HLA-A28 (28% против 4,9% в контроле), HLA-A19 (28% против 11,9% в контроле). Показатель относительного риска (RR) для HLA-A25 составил 36,7, для HLA-A28 — 5,6 и HLA-A19 — 2,5. Достоверность по точному критерию Фишера ($P \leq 0,001$) была установлена для антигенов HLA-A25 и HLA-A28.

Наряду с часто встречающимися антигенами были выявлены такие антигены, которые встречались реже у больных, чем в контрольной группе. Это HLA-A2 (10,0% против 36,9% в контроле) и HLA-B35 (10,0% против 27,2% в контроле). Но истинность связи по точному критерию Фишера для них не была установлена.

Кроме того, в работе были изучены гаплотипические ассоциации антигенов А и В локусов как в сравнении со здоровыми, так и в внутри исследуемой группы. Наиболее часто встречающимися гаплотипами явились: A1-B13 и A19-B5 с частотой 4,3%; A3-B18, A24-B17 и A28-B16 с частотой 2,6%; A10-B27, A19-B15, A28-B13 и A28-B15 с частотой 1,7%.

Полученные результаты свидетельствуют о важном вкладе HLA-антигенов в риск развития рака кожи.

ВЛИЯНИЕ СТВОЛОВЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ КРОВЕТВОРЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ГЕМОБЛАСТОЗАМИ С ТРАНСПЛАНТАЦИЕЙ СТВОЛОВЫХ КРОВЕТВОРНЫХ КЛЕТОК

Черных Е.Р., Сергеевичева В.В., Шевела Е.Я., Сахно Л.В., Петровский Я.Л., Останин А.А., Крючкова И.В., Лисуков И.А.

Институт клинической иммунологии СО РАМН, г. Новосибирск, Россия

Несмотря на широкое внедрение трансплантации периферических стволовых кроветворных клеток (ПСКК)

в клиническую практику, серьезными осложнениями данного метода по-прежнему остаются неэффективность приживления ПСКК, приводящая к возрастанию сроков критической нейтропении и развитию тяжелых инфекционных осложнений, а также развитию РТПХ при аллогенных трансплантациях. С целью предотвращения этих осложнений нами было апробировано использование мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) при аутологичной трансплантации ПСКК у больных гемобластозами и аутоиммунными заболеваниями, а также в небольшой группе больных с аллогенными родственными трансплантациями ПСКК. Обоснованием подобного подхода послужили полученные предварительно данные о том, что ММСК больных гемобластозами обладают сохранной гемопоэстимулирующей активностью. Так, ММСК больных (в соотношении 1:1 и 1:10) 5-кратно увеличивали количество КОЕ-Э и КОЕ-ГМ в культурах костно-мозговых мононуклеарных клеток доноров и больных. Причем способностью к стимуляции гемопоэза в равной степени обладали ММСК больных ОЛЛ, ЛГМ, НХЛ. Клинические испытания по оценке эффективности и безопасности совместной котрансплантации ММСК и ПСКК были проведены в группе 63 больных (60 — с гемобластозами и 3 больных системной красной волчанкой). Группу исторического контроля составили 43 пациента сходной нозологической структуры и фазой заболевания. Всем пациентам проводилась стандартная мобилизация, сепарация и трансплантация ПСКК после высокодозной ПХТ. Среднее количество трансплантированных $CD34^+$ ПСКК в группах было близким и составило $5,3 \times 10^6/\text{кг}$. Количество совместно трансплантированных ММСК составляло в среднем $15,8 \times 10^6$. Котрансплантация ММСК позволила сократить продолжительность критической нейтропении с 16 до 10 дней, а продолжительность критической тромбоцитопении — с 24 до 6 суток. Продолжительность нейтропении обратно коррелировала с дозой трансплантированных ММСК ($r = -0,27$; $p = 0,021$). Наиболее выраженный эффект ММСК на восстановление кроветворения проявляется при количестве $CD34^+$ клеток менее $3,5 \times 10^6/\text{кг}$ ($p = 0,037$). Следовательно, котрансплантация ММСК может быть альтернативой повторных мобилизаций ПСКК при неэффективной мобилизации и субоптимальном количестве сепарированных $CD34^+$ клеток. Относительное количество выживших пациентов в основной и контрольной группах через 6, 12 и 18 мес. значимо не различалось. Тем не менее в группе с котрансплантацией ММСК показатели выживаемости на 12 и 18 мес. были несколько выше. Таким образом, ко-трансплантация ММСК приводила к ускорению сроков восстановления кроветворения и не сказывалась негативным образом на выживаемости больных. Котрансплантации ММСК при проведении аллогенных трансплантаций были выполнены у 5 больных с острым миелолейкозом. ММСК получали от донора СКК и котрансплантировали в дозе $0,6-1,0 \times 10^6/\text{кг}$. Котрансплантация не сопровождалась развитием ранних посттрансплантационных осложнений. В результате трансплантации у всех больных была достигнута полная ремиссия, которая сохраняется уже в течение года. Острая РТПХ легкой степени отмечалась у 2 больных, хроническая РТПХ — у одного пациента. Ни у одного из пациентов мы не наблюдали развития острой РТПХ тяжелой степени.

СПОНТАННЫЙ И ИНДУЦИРОВАННЫЙ АПОПТОЗ У БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ

Чубукина Ж.В., Бубнова Л.Н., Бессмельцев С.С.

Российский НИИ гематологии и трансфузиологии, Санкт-Петербург, Россия

Цель исследования. Определение значения процесса апоптоза опухолевых клеток костного мозга больных множественной миеломой (ММ) для прогноза течения заболевания и оценки эффективности проводимой специфической терапии.

Материалы и методы. Обследовано 34 больных ММ в возрасте от 45 до 75 лет с длительностью заболевания от 6 до 60 мес. Впервые выявленная ММ была у 15 (34%) больных (1-я группа), у 19 (42%) был установлен рецидив заболевания (2-я группа). Содержание плазматических клеток (ПК) в костном мозге, по данным миелограммы, в 1-й группе больных составило 11,4-64,8% (36,2%), во 2-й группе — 8,4-86,4% (27,7%). Исследование апоптоза проводилось до начала химиотерапии (спонтанный апоптоз) больных ММ и на фоне лечения (индуцированный). В качестве исследуемого материала использовали мононуклеарную фракцию костного мозга. Определение содержания опухолевых миеломных клеток, находящихся в апоптозе, проводили в двухцветном анализе мембранных и внутриклеточных маркеров апоптоза с помощью экстернализации фосфотидилсерина (ФС) по связыванию с аннексином V и визуализацией на проточном цитофлуориметре «Cytomics FC 500» BECKMAN COULTER (США).

Результаты. В результате проведенного исследования установлено, что у больных 1-й группы средний показатель спонтанного апоптоза ПК костного мозга составил $26,4 \pm 2,7\%$. При этом внутри группы процент ПК, находящихся в апоптозе, был неоднороден. Так, у 5 (33%) больных спонтанный апоптоз был значительно ниже среднего показателя по группе и составил $15,1 \pm 3,4\%$, а на фоне химиотерапии происходило практически трехкратное увеличение показателя до $43,1 \pm 5,1\%$. Тогда как у 10 (67%) больных ММ количество апоптотических событий составило $37,7 \pm 1,8\%$, что было выше среднего показателя по группе, и в процессе терапии сохранялось без видимой динамики — $37,8 \pm 2,2\%$.

Аналогичная картина наблюдалась и у больных 2-й группы, где средний показатель апоптоза составил $24,4 \pm 3,8\%$. При этом у 6 (32%) больных ММ уровень спонтанного апоптоза составил $16,1 \pm 2,4\%$. На фоне лечения доля апоптотических клеток достоверно возрастала до $35,1 \pm 3,2\%$. У 13 (68%) больных уровень спонтанного апоптоза составил $32,6 \pm 4,3\%$ и на фоне терапии количество апоптотических клеток не имело видимой динамики ($31,3 \pm 3,8\%$).

Мы отметили, что те пациенты, у которых в процессе терапии отмечалось достоверное увеличение показателя апоптоза опухолевых клеток костного мозга, отвечали на специфическую полихимиотерапию (ПХТ) и давали положительную клинико-гематологическую динамику, стабилизацию процесса или ремиссию, и, напротив, те пациенты, у которых показатель апоптоза в ходе терапии сохранялся без видимой динамики, не давали положительного ответа на ПХТ, у них развивалась вторичная

химиорезистентность или отмечалась прогрессия заболевания.

Заключение. Таким образом, определение спонтанного и индуцированного апоптоза может быть использовано в качестве прогностического критерия для оценки эффективности терапии и дальнейшего течения заболевания.

ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-ЛИМФОЦИТОВ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ ПО УРОВНЮ ЭКСПРЕССИИ CD25, TGF β -1 И FOXP3

Чуров А.В., Олейник Е.К., Олейник В.М.

Учреждение Российской академии наук Институт биологии Карельского научного центра РАН, г. Петрозаводск, Республика Карелия, Россия

Проблема формирования иммунной супрессии при онкологических заболеваниях представляет большой интерес для исследователей в области клинической иммунологии. Одним из механизмов супрессии в онкогенезе считается увеличение численности регуляторных CD4⁺CD25⁺ Т-лимфоцитов (Treg) и секреция этими клетками цитокинов, ингибирующих функции эффекторов иммунного ответа. Основным ингибирующим цитокином Treg-клеток является трансформирующий фактор роста- β 1 (TGF β -1). TGF β -1 способен подавлять пролиферацию лимфоцитов, блокировать дифференцировку CD8⁺ ЦТЛ, CD4⁺Т-хелперов 1 и 2 типа. В то же время, TGF β -1 может стимулировать дифференцировку Treg-клеток из наивных CD4⁺CD25⁻ лимфоцитов периферической крови и индуцировать в этих клетках экспрессию транскрипционного фактора FOXP3 (forkhead box P3) — наиболее специфичного из известных на сегодня маркеров Treg.

Целью исследования было изучение функциональной активности регуляторных Treg-лимфоцитов периферической крови у онкологических больных по уровню экспрессии мембранного маркера CD25, ингибиторного цитокина TGF β -1, а также транскрипционного фактора FOXP3.

Материалом исследования служили лимфоциты периферической крови 50 онкологических больных в возрасте от 29 до 74 лет, из них 11 больных раком легкого (РЛ), 10 больных колоректальным раком (КРР), а также 29 больных с опухолями желудочно-кишечного тракта, мочевыделительной, эндокринной и репродуктивной систем. В качестве контроля использовали показатели, полученные при исследовании лимфоцитов периферической крови 31 здорового донора в возрасте от 31 до 68 лет. Мембранные маркеры лимфоцитов определяли методом непрямой иммунофлюоресценции. Мононуклеарные клетки крови выделяли центрифугированием на градиенте фиколл-верографин (плотность 1,077). Фенотипирование проводили с использованием моноклональных антител, меченных FITC, к молекулам CD3, CD4, CD25. Число клеток, на поверхности которых был экспрессирован тот или иной маркер, выражали в процентах от общего числа лимфоцитов. Уровень экспрессии мРНК генов TGF β -1 и FOXP3 определяли методом ПЦР в реальном времени, совмещенной с обратной транскрипцией (Real-Time RT-PCR). Суммарную РНК выделяли из цельной крови

с использованием набора реагентов «YellowSolve» («Клоноген»). Для реакции обратной транскрипции использовали гексапраймеры и MMLV-обратную транскриптазу («Силекс»). Детекцию продуктов амплификации проводили с использованием красителя SYBR Green I («Синтол»). В качестве референсного гена применяли GAPDH. Достоверность различий оценивали на основании критерия Стьюдента при $p < 0,05$.

Изучение уровня экспрессии основного мембранного маркера Treg-лимфоцитов показало, что у онкологических больных процентное содержание CD25⁺ клеток в периферической крови было примерно вдвое больше по сравнению с контролем ($31,6 \pm 1,7$ и $17,9 \pm 1,0$; $p < 0,05$). Исследование экспрессии гена основного ингибирующего цитокина Treg-клеток в целом выявило повышение количества мРНК TGF β -1 у больных с опухолями ($1,28 \pm 0,03$; $p < 0,05$) относительно контроля. При этом уровень экспрессии TGF β -1 в группе больных РЛ оказался выше ($1,34 \pm 0,04$), чем в группе больных КРР ($1,21 \pm 0,05$). Уровень экспрессии гена FOXP3 у онкологических больных также оказался заметно выше, чем в контрольной группе ($1,45 \pm 0,10$, $p < 0,05$). Относительное содержание мРНК FOXP3 у больных КРР составило $1,22 \pm 0,10$, а у больных РЛ — $1,66 \pm 0,13$. Уровень экспрессии FOXP3 лимфоцитами крови больных РЛ оказался достоверно выше, чем у больных КРР ($p < 0,05$).

Таким образом, лимфоциты периферической крови онкологических больных характеризуются увеличением экспрессии маркера активации CD25, ингибирующего цитокина TGF β -1, а также транскрипционного фактора FOXP3. У больных РЛ отмечен наиболее высокий уровень экспрессии всех исследованных показателей, что свидетельствует о более высокой функциональной активности Treg-клеток при РЛ.

Работа выполнена в рамках Программы Президиума РАН «Фундаментальные науки — медицине» и при финансовой поддержке РФФИ (№ 08-04-98838).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ИММУНОЦИТОХИМИИ НА МАЗКАХ КОСТНОГО МОЗГА У БОЛЬНЫХ НЕЙРОБЛАСТОМой

Шатинина Н.Н., Байдун Л.В.

ГУ «Российская детская клиническая больница Росздрава», Москва, Россия

В детском возрасте большую часть опухолей составляют новообразования, происходящие из эмбриональных клеток. Опухоли из симпатической нервной системы, к которым относится нейробластома, составляют примерно 7-11% и занимают третье место после опухолей ЦНС. При простой световой микроскопии морфологу бывает сложно выявить природу опухоли даже на гистологическом срезе, т.к. нейробластома относят к обширному семейству мелкокруглоклеточных опухолей. В большинстве случаев опухоль состоит из мелких однородных круглых клеток с гиперхромным ядром, окруженных минимальным количеством цитоплазмы. Из этого описания понятна еще большая сложность идентификации метастатических клеток этого новообразования в костном мозге пациентов с диагнозом нейробластома. Кроме того, нейробластома принадлежит к той категории

детских опухолей, при которых используются опухолевые маркеры не только для диагностики и прогноза, но и для мониторинга в процессе лечения.

А если учесть то, что по литературным данным до 70% пациентов на момент диагностики имеют метастазы в костный мозг, понятна актуальность поиска информативной иммунофенотипической панели для данного исследования.

Исследовались мазки костного мозга от 21 ребенка с диагнозом нейробластома. Средний возраст детей составил 3 года, дети до 1 года составили 36%. В исследуемой группе мальчики составили 55%, девочки — 45%. Мазки костного мозга были исследованы с применением метода традиционной иммуноцитохимии с оценкой результатов методом световой микроскопии (ТИЦ) с использованием различных антител. В работе использованы антитела и системы визуализации фирм «DAKO», «NC», «BD» и «LabVision».

Сопоставительный анализ полученных данных с данными литературы показал принципиальное совпадение информативности спектра использованных нами антител для диагностики метастазов нейробластомы в костный мозг. Кроме того, удалось выделить наиболее информативные антитела для первичной диагностики не только агломератов опухолевых клеток, но и изолированных опухолевых клеток при метастазах нейробластомы в костный мозг у детей, используя ТИЦ на мазках костного мозга.

Использование представленного перечня антител CD45, CD56, CD57, CD99, Desmin, NF, Syn., PGP9,5 & NSE наряду с морфологическим исследованием, наиболее информативно при иммунофенотипировании для выявления не только агломератов, но и изолированных опухолевых клеток у детей с метастазами нейробластомы в костный мозг. Предлагаемый перечень антител, при постановке реакций на мазках костного мозга методом традиционной иммуноцитохимии, в комплексе с оценкой результатов методом световой микроскопии, расширяет рамки стандартно выполняемых тестов при исследовании костного мозга, позволяя уточнить стадию заболевания, прогноз и проведение мониторинга.

Выражаем глубокую благодарность за постоянную помощь в практической реализации детской программы «Сердце ребенка» Совету Лютеранской Церкви и ее прихожанам (Япония, г. Хиросима).

ДИНАМИКА ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ПРОЦЕССЕ ПРОВЕДЕНИЯ ИНТЕРФЕРОНОТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ПОЧКИ

Шкапова Е.А., Куртасова Л.М., Зуков Р.А.

*Красноярский краевой онкологический диспансер,
г. Красноярск, Россия*

*Красноярский государственный медицинский
университет, г. Красноярск, Россия*

На сегодняшний день наиболее целесообразным подходом в лечении местнораспространенного почечно-клеточного рака (ПЧР) является комбинированный метод, включающий наряду с радикальной нефрэктомией иммунотерапию препаратами IFN α -2a.

Цель исследования: изучение показателей иммунного статуса в процессе интерферонотерапии у больных местнораспространенным ПЧР.

Проведены динамические наблюдения за 81 больным местнораспространенным ПЧР, которым через 4 недели после радикальной нефрэктомии начата интерферонотерапия. 1-я группа — 55 пациентов, получали «Реаферон» 3 раза в неделю в дозе, подобранной с учетом индивидуальной клеточной чувствительности *in vitro*; 2-я группа — 26 больных, у которых клеточная чувствительность к «Реаферону» *in vitro* отсутствовала, и лечение осуществлялось по стандартной схеме: 3 млн МЕ «Реаферона» ежедневно. В обеих группах количество инъекций на цикл — 12, перерыв между циклами — 3 недели, количество циклов до 4-х. Суммарная доза «Реаферона» в 1-й группе составила 144–384 млн МЕ, во 2-й — 120 млн МЕ. Клеточную чувствительность к «Реаферону» *in vitro* определяли химилуминесцентным методом [De Sole et al., 1983]. Иммунофенотипирование лимфоцитов осуществляли методом непрямой флуоресценции. Концентрацию IgA, IgM и IgG определяли по методу Манчини.

Изменения параметров иммунного статуса у пациентов 1-й группы после I цикла лечения «Реафероном» характеризовались увеличением количества лейкоцитов и абсолютного содержания CD3⁺ и CD8⁺ клеток, относительно соответствующего параметра до начала интерферонотерапии ($p < 0,05$). После II цикла лечения наблюдается повышение IgA и IgM и снижение IgG в сыворотке крови по сравнению с показателями до начала иммунотерапии ($p < 0,05$) на фоне стабильных параметров, характеризующих состояние клеточного иммунитета. После III цикла интерферонотерапии повышено содержание лимфоцитов в сравнении с исходными показателями ($p < 0,05$). Увеличено количество CD3⁺, CD4⁺ и CD16⁺/56⁺ клеток, ИРИ, а также клеток, несущих на своей поверхности активационный маркер HLA-DR⁺ ($p < 0,05$). Количество CD19⁺ лимфоцитов значительно снижено относительно показателей до начала иммунотерапии ($p < 0,05$), однако уровень IgA, IgM и IgG в сыворотке крови сохраняется на таком же уровне, как до начала лечения. Состояние параметров иммунной системы через 3 недели после IV цикла иммунотерапии в целом остается таким же, как после III, за исключением повышения содержания CD19⁺ лимфоцитов и снижения количества клеток, экспрессирующих активационный маркер HLA-DR ($p < 0,05$).

У пациентов 2-й группы наиболее выраженные изменения в клеточном звене иммунитета, так же как и в 1-й группе, наблюдались после III цикла реферонотерапии. Установлено увеличение абсолютного числа лимфоцитов, процентного и абсолютного содержания CD3⁺ клеток относительно параметров до начала иммунотерапии ($p < 0,05$). Кроме того, выявлено повышение количества CD8⁺ клеток и понижение величины ИРИ в этой группе обследуемых пациентов ($p < 0,05$). При анализе показателей гуморального звена иммунитета после II цикла реферонотерапии отмечены однонаправленные с 1-й группой изменения: повышенная концентрация IgA и IgM и сниженный уровень IgG в сыворотке крови по сравнению с показателями перед I циклом иммунотерапии ($p < 0,05$). Однако если в 1-й группе пациентов после III цикла величины IgA, IgM и IgG восстанавливаются до нормативных параметров, то во 2-й группе они остаются на прежнем уровне и после IV цикла терапии «Реафероном». После IV цикла иммунотерапии во 2-й группе

снижено содержание $CD4^+$ клеток, увеличено количество $CD8^+$ лимфоцитов и клеток, экспрессирующих $HLA-DR^+$ относительно аналогичных параметров в 1-й группе больных ПКР ($p < 0,05$). Кроме того, показатели уровней IgA и IgM в 1,9 и 2,9 раза соответственно превосходили величины, зафиксированные в 1-й группе, а концентрация IgG в 1,5 раза была ниже, чем в группе 1 ($p < 0,05$).

Таким образом, динамический анализ показателей иммунного статуса в ходе интерферонотерапии показал, что у больных, получавших лечение с учетом индивидуальной клеточной чувствительности к «Реаферону» *in vitro*, отмечены более выраженные положительные иммунологические изменения по сравнению с группой пациентов, получавших лечение по стандартной схеме.