быть причиной развития не только сложных патологических состояний в нем, но и влиять на пищеварительную функцию всего желудочно-кишечного тракта.

Ключевые слова: хронический гастрит, желудочная секреция, гепатобилиарная система, пищеварительная функция.

only complex pathological conditions, but also influence the digestive function of the alimentary tract as a whole.

Key words: chronic gastritis, gastric secretion, hepatobiliary system, digestive function.

Стаття надійшла 2.09.2015 р. Рецензент Кущ О.Г.

УДК 616-006.328.03-091.8-07:577.112

С. І. Тертишний
Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя

ЕКСПРЕСІЯ CD4+, CD8+ Т -ЛІМФОЦИТІВ В ДОБРОЯКІСНИХ МЕНІНГИОМАХ

У роботі вивчена вираженість експресії пухлина-інфільтруючих CD4 +, CD8 + Т-лімфоцитів в доброякісних менінгіоми, видалених під час нейрохірургічних операцій. Виявлено, що доброякісні менінгіоми (менінготеліоматозние, перехідні і фіброзні) характеризуються рівномірним розподілом пухлина-інфільтруючих CD4 + і CD8 + Т-лімфоцитів в полі зору, зі збільшенням щільності їх розташування навколо мікросудин. Кількість CD8 + Т-лімфоцитів в 2,81 - 3,21 рази перевищує кількість CD4 + Т-лімфоцитів. Співвідношення CD4 + / CD8 + Т-лімфоцитів становить 0,3-0,35. Поряд з вираженою експресією CD4 + і CD8 + Т-лімфоцитів в менінгіоми реєструється слабка експресія CD4 і CD8, що може проявлятися в нормі на моноцитах, тканинних макрофагах і NK-клітинах, що підтверджує більш широке представництво імунних клітин в менінгіоми і вимагає подальшого вивчення.

Ключові слова: CD4 +, CD8 + Т -лімфоцити, доброякісні менінгіоми.

Робота є фрагментом НДР «Нові технології ранньої діагностики онклогічних, нейро-ендокринних, сердцево-судинних, церебро-васкулярних, аутоімунних і інфекційніх захворювань» (№ держ. реєстрації 0106U003709).

В наш час на клітинному і молекулярному рівні широко вивчаються імунні реакції при пухлинному рості [1, 2, 4]. Це дає можливість більш точно встановити взаємовідносини між імунною системою і пухлиною, що представляє теоретичний і практичний інтерес в плані розробки ефективних методів імунотерапії. Поряд з цим при пухлинах ЦНС немає однозначного уявлення про вираженість імунних реакцій в умовах зростання пухлини. Частково це пов'язано з імунною ізольованістю головного мозку, а також з отриманими даними про те, що цілий ряд імунних функцій виконують не імунокомпетентні, а резидентні клітини головного мозку – нейрони, астроглія, мікроглія, ендотелій мозкових капілярів, паравентрикулярні макрофаги [3, 9].

Дослідженнями показано, що при менінгіомах головного мозку, які є найбільш розповсюдженими негліальними пухлинами ЦНС, що складають до 26% первинних інтракраніальних пухлин, спостерігається комбінована імунна недостатність в основі якої лежить переважне пригнічення гуморального імунітету, а також неспецифічних факторів захисту, що пов'язане з дисбалансом регулюючих прозапальних цитокінів [5]. Між тим великий інтерес останнім часом викликає вивчення фенотипічних характеристик та протипухлинних властивостей пухлин-інфільтруючих лімфоцитів (TIL). При цьому дані про вираженість іммуноклітинної інфільтрації в менінгіомах представлені лише в одиничних роботах [6], що спонукало проведення даного дослідження.

Метою роботи було вивчення вираженості іммуноклітинної інфільтрації (CD4 +, CD8 + Т-лімфоцитів) та її розподіл в пухлинній тканині при різних варіантах доброякісних менінгіом.

Матеріал та методи дослідження. Проведено комплексне гістологічне, імуногістохімічне (ІГХ) і морфометричне дослідження операційного матеріалу - вилучених під час нейрохірургічних операцій менінгіом головного мозку у 20 хворих, у віці від 38 до 65 років. У відповідності до гістологічної класифікації (ВООЗ, 2007), були виділені варіанти доброякісних менінгіом, що зустрічаються найбільш часто у хворих: менінготеліоматозний варіант менінгіоми (n=9), перехідний (n=6), фіброзний (n=5). Для мікроскопічного і ІГХ дослідження пухлинну тканину фіксували в нейтральному забуференному 10% формаліні, після відповідної обробки заливали в парафін і виготовляли серійні зрізи товщиною 4 мкм. У відповідності зі стандартизованими протоколами в парафінових зрізах після температурного демаскування антигенів шляхом нагрівання на водяній бані в Тріс-ЕДТА буфері (pH=9,0) і пригнічення активності ендогенної пероксидази 3% розчином перекису водню проводили ІГХ дослідження з використанням моноклональних антитіл до CD4 і CD8 рецепторів і системи візуалізації EnVision + («DAKO», - Данія) з діамінобензидіном. Антитіла застосовували в розведенні 1:50 і 1:100. Результати кожної ІГХ реакції оцінювали кількісним методом шляхом підрахунку позитивно забарвлених клітин в

полі зору мікроскопа Axioplan 2 («Carl Zeiss», Німеччина) при збільшенні в 600 разів. Також враховували особливості розподілу імуноцитів в пухлинній тканині. Кількісні дані обробляли з визначенням значення середньої арифметичної вибірки (M), та розрахунку помилки (±m) для середніх величин.

Результати дослідження та їх обговорення. Менінготеліоматозні менінгіоми характеризувалися овальною або округлою формою клітин з видовженими ядрами і різною щільністю розподілу їх в полі зору мікроскопу. Ділянки пухлинної тканини як правило були обмежені незначною кількістю колагенових волокон. У ділянках щільного розташування пухлинних клітин спостерігалося формування характерних концентричних структур. У ділянках більш пухкого розташування пухлинних клітин зустрічалася помірна кількість мікросудин зі склерозованими, місцями гіалінізованими стінками і дрібні лімфоцитоподібні клітини. При ІГХ-дослідженні визначалось незначне і рівномірне розподілення CD4+ лімфоцитів в полі зору (рис. 1А), зі збільшенням щільності їх розташування навколо мікросудин. Середня кількість CD4+ лімфоцитів склала 5,7 ± 1,2 в полі зору. CD8 + лімфоцити відрізнялися більш щільним розташуванням в полі зору (рис. 1Б).

Рівномірне їх розташування чергувалося зі збільшенням (в 1,6-1,8 разів) їх кількісті в ділянках зі значною кількістю мікросудин (рис. 1В). CD8+ лімфоцити в 3-3,5 рази перевищували вміст CD4+ лімфоцитів, їх кількість становила в середньому 17,85±5,26 клітин. На відміну від CD4+ лімфоцитів, CD8+ Т-лімфоцити нерідко формували скупчення у вигляді вузликів з 22-26 клітин, які розташовувалися в ділянках більш щільного розташування пухлинних клітин (рис. 1Г). Співвідношення CD4+/CD8+ лімфоцитів становило – 0,3. Поряд з вираженою мембранною експресією CD4 і CD8 у всіх досліджуваних препаратах реєструвалася рівномірна слабка мембранная експресія в окремих клітинах, дифузно розташованих в полі зору.

У перехідних менінгіомах чергувалися ділянки менінготеліоматозного, синцитіального типу, та з переважанням фібробластичного диференціювання. Гістоархітектоніка пухлин характеризувалася більш вираженим поліморфізмом в порівнянні з мінінготеліоматозним варіантом. Клітини пухлини розрізнялися за розмірами, повсюдно зустрічалися концентричні структури, в ділянках більш пухкої клітинної будови з переважанням колагенових волокон реєструвалася велика кількість мікросудин, навколо яких визначалась збільшена щільність CD4+ і CD8+ лімфоцитів. Розподіл CD4+ і CD8+ лімфоцитів реєструвався аналогічно менінготеліоматозному варіанту пухлини. Середня кількість CD4+ і CD8+ лімфоцитів склала відповідно 6,1±1,4 і 17,2±4,1 в полі зору. Співвідношення CD4+ /CD8+ лімфоцитів становило – 0,35.

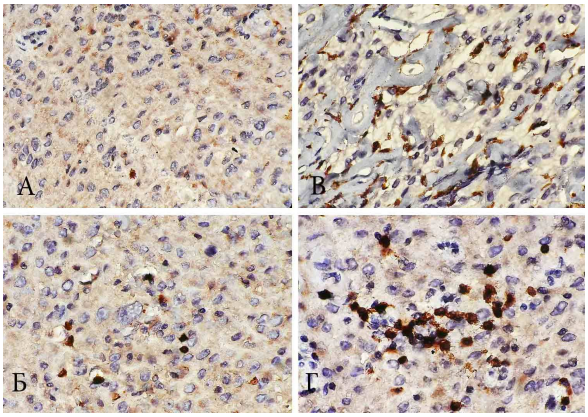

Рис. 1. Менінготеліоматозна менінгіома. А – Експресія CD4+ Т-лімфоцитів в пухлині. Б - Експресія CD8+ Т-лімфоцитів в пухлині. В - експресія CD8+ в участках ангіоматозу. Г – формування скупчень CD8+ Т-лімфоцитів в пухлині. Метод ІГХ. Зб. ×600.

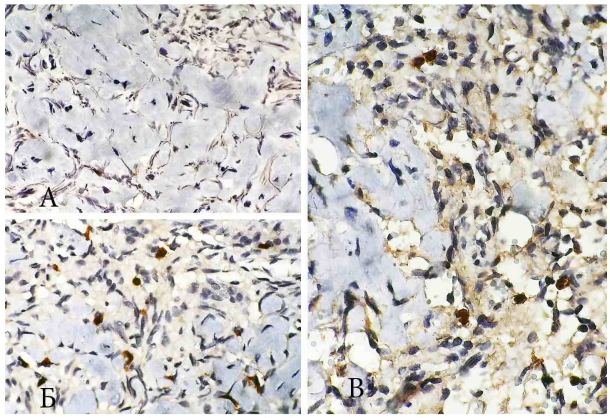

Рис. 2. Фіброзна менінгіома. А – щільний колагеновий матрикс пухлини з формуванням концентричних структур. Б - Експресія CD4+ Т-лімфоцитів в пухлині. В - експресія CD8+ Т-лімфоцитів Метод ІГХ. Зб. ×600.

Гістоархітектоніка фіброзних менінгіом була представлена, як правило, значною кількістю колагенових волокон, що розташовувалися у різних напрямах і формували концентричні структури (рис. 2А). У щільній колагеновій стромі розташовувалися острівці фібробластоподібних арахноїдендотеліоцитів з витягнутими ядрами, що містили дрібнозернистий хроматин. Ділянки з переважанням волокнистого матриксу і низькою клітинної щільністю характеризувалися відсутністю експресії CD4 і CD8 Т-лімфоцитів. У ділянках пухлини з

переважанням клітинного компонента між волокнами і пухлинними клітинами відзначалася рівномірна в полі зору експресія CD4+ і CD8+ Т-лімфоцитів (рис. 2Б, В).

Кількість CD4+ і CD8+ Т-лімфоцитів становила відповідно 4,7 ± 1,5 і 15,1 ± 2,8 в полі зору. Співвідношення CD4+ /CD8+ лімфоцитів становило – 0,33. Поряд з вираженою мембранною експресією CD4 і CD8, у всіх досліджуваних менінгіомах реєструвалася рівномірна слабка мембранна експресія в окремих клітинах, дифузно розташованих в полі зору. На окремих ділянках кількість таких клітин в 2-2,5 разів перевищувала кількість CD4+ і CD8+ Т-лімфоцитів.

Отриманим даним, стосовно чисельності CD4+ і CD8+ Т-лімфоцитів, складно дати однозначну оцінку, так як взаємодія пухлини та імунної системи є досить складною, і кінцевий результат цієї взаємодії не може бути передбачений на підставі вираженості імунної інфільтрації в пухлині [7]. Проте важливість Т-лімфоцитів в протипухлинному імунітеті безперечна. Так в ряді досліджень відзначено, що зростання первинної пухлини і метастазів можуть бути пов'язані зі зниженням щільності внутрішньопухлинних імунних Т-клітин [8], а баланс між ефекторними та регуляторними Т-клітинами може бути важливим фактором у прогнозуванні виживання пацієнтів при різній онкопатології [10].

Поряд з цим вказується, що в ряді солідних пухлин CD8+ Т-лімфоцити часто перевищують чисельністю популяцію CD4+ клітин [6]. При менінгіомах, як вказує ряд авторів, кількість CD8+ також перевищує кількість CD4+ Т-лімфоцитів [7], що отримано і в наших спостереженнях. Також збереження стабільного співвідношення CD4+/CD8+, що відзначалося в нашому дослідженні, можливо є передумовою встановлення динамічної рівноваги між пухлиною і імунною системами. Така рівновага може сприяти повільному зростанню пухлини, характерному для багатьох менінгіом [7].

Висновки

1. Досліджувані доброякісні менінгіоми характеризуються рівномірним розподіленням пухлин-інфільтруючих CD4+ і CD8+ Т-лімфоцитів в полі зору, зі збільшенням щільності їх розташування навколо мікросудин. При менінготеліоматозних менінгіомах зустрічаються скупчення CD8+ Т-лімфоцитів, що не спостерігалось при інших варіантах менінгіом.
2. Кількість пухлин-інфільтруючих CD8+ Т-лімфоцитів в 2,81 – 3,21 рази перевищує кількість CD4+ Т-лімфоцитів. Співвідношення CD4+ /CD8+ Т-лімфоцитів становить 0,3-0,35, що може свідчити про встановлення динамічної рівноваги між пухлиною і імунною системою.
3. Поряд з вираженою експресією CD4+ і CD8+ Т-лімфоцитів в досліджуваних менінгіомах зустрічалася слабка експресія CD4, яка може виявлятися в нормі на моноцитах і тканинних макрофагах, а також слабка експресія CD8, що може в нормі спостерігатися на NK-клітинах. Зазначений факт підтверджує більш широке представництво імунних клітин в менінгіомах, що потребує подальшого вивчення.

***Перспективи подальших досліджень**. Враховуючи, що кількість і імунофенотип пухлина-інфільтруючих клітин є найважливішим чинником клінічного наслідку захворювання, подальше вивчення взаємодій між різними імунними клітинами, що інфільтрують пухлину, дозволить відкрити нові можливості імунотерапії пухлин.*

Список літератури

1. Кузовлев Е. Н. Особенности иммунофенотипа лимфоцитов, выделенных из пораженной опухолью печени у мышей / Е.Н. Кузовлев, О.В. Лебединская, Н.К.Ахматова [и др.] // Современные наукоемкие технологии. – 2005. – № 3. –44 с.
2. Кит О.И. Местный клеточный иммунитет при аденокарциноме и полипах толстой кишки / О.И. Кит, А.В. Шапошников, Е.Ю. Златник, [и др.] // Сибирское медицинское обозрение. – 2012. – № 4. – С 11-16.
3. Мухачева М.В. Баланс цитокинов при церебральных опухолях / М.В. Мухачева // Медицинский альманах. – 2011. – № 5. – С.105-107.
4. Малышев И.Ю. Матричное репрограммирование иммунных клеток и роль его нарушения в патогенезе опухолей / И.Ю. Малышев // Вестник РОНЦ им. Н.Н.Блохина. – 2012.– № 2. – С. 21-33.
5. Селюкова М.В. Особенности иммунного статуса у больных с менингиомами и глиомами полушарий головного мозга: дис. ... канд. мед. наук/ М.В. Селюкова – Пермь, - 2005. – 163 с.
6. Domingues P. H. Immunophenotypic identification and characterization of tumor cells and infiltrating cell populations inmeningiomas / P.H. Domingues, C. Teodósio, J. Ortiz [et al.] // Am J Pathol. – 2012. – №5. – P. 1749-1761
7. Fang L. The immune cell infiltrate populating meningiomas is composed of mature, antigen-experienced T and B cells / L.Fang, D.E. Lowther, M.L. Meizlish [et al.] // Neuro Oncol. – 2013. – Vol.15(11). – P.1479-1490.
8. Mlecnik B. Histopathologic-based prognostic factors of colorectal cancers are associated with the state of the local immune reaction / B. Mlecnik, M. Tosolini, A. Kirilovsky [et al.] // J Clin Oncol. – 2011. – Vol.29(6). – P.610-618.
9. Prosniak M. Glioma grade is associated with the accumulation and activity of cells bearing M2 monocyte markers / M. Prosniak, L.A. Harshyne, D.W. Andrews [et al.] // Clin Cancer Res.- 2013. – 19(14). – P. 3776-3786.
10. Watanabe Y. Tumor-infiltrating lymphocytes, particularly the balance between CD8(+) T cells and CCR4(+) regulatory T cells, affect the survival of patients with oral squamous cell carcinoma / Y. Watanabe, F. Katou, H. Ohtani [et al.] // Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. – 2010. – Vol.109(5). – P.744-752.

Реферати

ЭКСПРЕССИЯ CD4+, CD8+ Т -ЛИМФОЦИТОВ В ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ МЕНИНГИОМАХ

Тертышный С. И.

В работе изучена выраженность экспрессии опухоль-инфильтрирующих CD4+, CD8+ Т–лимфоцитов в доброкачественных менингиомах, удаленных во время нейрохирургических операций. Выявлено, что доброкачественные менингиомы (менинготелиоматозные, переходные и фиброзные) характеризуются равномерным распределением опухоль-инфильтрирующих CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов в поле зрения, с увеличением плотности их расположения вокруг микрососудов. Количество CD8 + Т-лимфоцитов в 2,81 - 3,21 раза превышает количество CD4+ Т-лимфоцитов. Соотношение CD4+ /CD8+ Т-лимфоцитов составляет 0,3-0,35. Наряду с выраженной экспрессией CD4 + и CD8 + Т-лимфоцитов в менингиомах регистрируется слабая экспрессия CD4 и CD8, что может проявляться в норме на моноцитах, тканевых макрофагах и NK-клетках, что подтверждает более широкое представительство иммунных клеток в менингиомах и требует дальнейшего изучения.

Ключевые слова: CD4+, CD8+ Т –лимфоциты, доброкачественные менингиомы.

Стаття надійшла 28.09.2015 р.

EXPRESSION OF CD4+, CD8+ LYMPHOCYTES IN BENIGN MENINGIOMAS

Tertishniy S. I.

The extent of CD4+, CD8+ expression in tumor-infiltrating lymphocytes was studied in benign meningiomas, obtained from patients undergoing neurosurgical craniotomies. We elucidated that benign meningiomas (meningothelial, transitional and fibrous subtypes) were characterized by evenly distributed CD4+, CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes with increase of their density around microvessels. Quantity of CD8+ lymphocytes exceeded number of CD4+ lymphocytes in 2,81-3,21 times. The ratio of CD4 + / CD8 + T-lymphocytes was 0,3-0,35. Along with extensive CD4+ and CD8+ expression in tumor-infiltrating lymphocytes weak expression of CD4+ and CD8+ was registered, which can normally be found in monocytes, tissue macrophages and NK-cells. This data prove broad distribution of immune cells in meningiomas and needs further investigation.

Key words: CD4+, CD8+ lymphocytes, benign meningiomas.

Рецензент Старченко І.І.

УДК 616.33/.34 – 002 – 08

Г. С. Хайменова, О. А. Янчук
ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

МОДЕРНІАЦІЯ ТЕРАПІЇ ХВОРИХ З ЗАХВОРЮВАННЯМИ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ ШЛЯХОМ ВИКОРИСТАННЯ МАГНІЄВО-МІНЕРАЛЬНОГО КОМПЛЕКСУ

Неалкогольна жирова хвороба печінки (НЖХП) — це поліетіологічний дифузний дисметаболічний процес, що триває понад 6 місяців та передбачає жирову дистрофію гепатоцитів із гістіолімфоцитарною інфільтрацією печінкових часточок, гіперплазією перисинусоїдальних зірчастих клітин та фіброзом зі збереженням архітектоніки печінки (E.M. Brunt, 2004). Нашою головною метою постало дослідити ефективність і переносимість препарату «Детоксмаг» ("DETOXMAG") в лікуванні хворих неалкогольною жировою хворобою печінки. За отриманими даними зроблені висновки, що застосування препарату «Детоксмаг» ("DETOXMAG") на основі Бішофіту Полтавського родовища в терапії НАЖХП з підвищеним ліпідним спектром призводить до поліпшення самопочуття пацієнтів, нормалізації біохімічних показників, нормалізує ліпідограму, запобігає прогресуванню хвороби, а все це покращує якість життя пацієнтів.

Ключові слова: неалкогольна жирова хвороба печінки, патогенетична терапія, Бішофіту Полтавського родовища, магнієво-мінеральний комплекс.

Робота є фрагментом НДР «Розробка стратегії використання епігенетичних механізмів для профілактики та лікування хвороб, пов'язаних із системним запаленням» 0114U000784 2014 – 2016 рр.

На сьогоднішній день дуже багато уваги приділяється гастроентерологічним захворюванням, так як приріст даних нозологій стрімко зростає. На фоні стрімкого росту числа осіб, що страждають від ожиріння, цукровий діабет та з метаболічним синдромом, все більше значення набувають захворювання шлунково-кишкового тракту.

Неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП) – це набуте метаболічне стрес-індуковане захворювання печінки, асоційоване з інсулінорезистентністю і генетичною схильністю. НАЖХП являє собою одну з найважливіших проблем суспільної охорони здоров'я в усьому світі в XXI ст. і також стає все більш актуальною проблемою на Україні. Поширеність НАЖХП, за даними різних дослідників, варіює на тлі підвищеного харчування, при ІМТ більше 28 кг/м2 становить близько 20%, при ожирінні II-III ступеня – вже 55% [3, 4]. Основна мета терапії НАЖХП – профілактика і лікування метаболічного синдрому. Відповідно до сучасних принципів лікування захворювань печінки програма комплексної терапії зазначених захворювань включає два основних напрямки. Перше – етіотропна терапія, спрямована на придушення активності патологічного агента-збудника, його елімінацію і санацію організму. Другий напрямок