

# МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЯ КООПЕРАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ И ЭОЗИНОФИЛОВ ПРИ ГЕМОБЛАСТОЗАХ, СОПРОВОЖДАЮЩИХСЯ СИНДРОМОМ ЭОЗИНОФИЛИИ

Рязанцева Н.В., Литвинова Л.С., Новицкий В.В.,  
Ткаченко С.Б., Колобовникова Ю.В., Григорьева Е.С.,  
Суворова Е.В., Кнутарева Е.Н., Жукова О.Б.

Кафедра патофизиологии и кафедра фундаментальных основ клинической медицины ГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», г. Томск

**Резюме.** Злокачественные заболевания системы крови, ассоциированные с синдромом эозинофилии, сопровождаются нарушением секреции ряда ключевых цитокинов, регулирующих процессы пролиферации, дифференцировки и активации лейкоцитов эозинофильного ряда. Дисбаланс секреции изученных Th2-цитокинов, по-видимому, способствует формированию феномена эозинофилии при злокачественной патологии системы крови.

**Ключевые слова:** гемобластозы, эозинофилы, лимфоциты, кооперация.

*Ryazantseva N.V., Litvinova L.S., Novitskiy V.V., Tkachenko S.B., Kolobovnikova Yu.V., Grigorieva E.S., Suvorova E.V., Knutareva E.N., Zhukova O.B.*

## MECHANISMS OF DISTURBED COOPERATION BETWEEN LYMPHOCYTES AND EOSINOPHILS IN HEMOBLASTOSES COMPLICATED WITH EOSINOPHILIC SYNDROME

**Abstract.** Malignant diseases of blood system, associated with an eosinophilic syndrome, are accompanied by altered production of some key cytokines regulating proliferation, differentiation and activation events in the cells of eosinophilic lineage, as detected with ELISA approach. An imbalanced secretion of Th2 cytokines, as studied in lymphoproliferative diseases, may be a promoting factor of eosinophilia development in malignant disorders of blood system. (*Med. Immunol.*, 2007, vol. 9, N 4-5, pp 411-418)

## Введение

Среди злокачественных новообразований системы крови особое внимание привлекают ми-

ело- и лимфопролиферативные заболевания, ассоциированные с высокой степенью эозинофилии [3]. В настоящее время актуальной остается проблема интерпретации причин возникновения последней у больных с гемобластозами [7, 19]. Известные на сегодняшний день механизмы формирования эозинофилии периферической крови при типовых патологических процессах не позволяют создать целостного представления о патогенезе этого феномена [2, 6, 11].

Принципиальным аспектом в изучении пу-  
сковых механизмов развития любого патологического процесса становится фундаментальное

### Адрес для переписки:

Литвинова Лариса Сергеевна  
634050, г. Томск, Московский тракт, 2,  
ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава,  
кафедра патофизиологии.  
Тел.: (3822) 52-97-47.  
Факс: (3822) 53-33-09.  
E-mail: larisalitinova@yandex.ru

исследование природы кооперативных взаимодействий между иммунocyтaми и клетками макроорганизма [1, 2, 9, 16]. Сведения литературы, касающиеся участия эозинофильных гранулоцитов в реализации механизмов межклеточной кооперации при злокачественных заболеваниях системы крови, носят весьма неоднозначный характер и затрагивают лишь клинические аспекты обсуждаемой проблемы.

Существующая между клетками иммунной системы и эозинофилами взаимонаправленность эффектов обусловлена как иммуномодулирующим действием иммунокомпетентных клеток, так и способностью лейкоцитов эозинофильного ряда активировать иммунocyтaы и вызывать поляризацию иммунного ответа в ту или иную сторону за счет секреции иммунорегуляторных молекул [2, 23]. Согласно современным представлениям, патогенез эозинофилии, сопутствующий течению лимфопролиферативных заболеваний и сопровождающий их пролиферации опухолевых клонов Т-клеток, может быть связан с формированием дисбаланса цитокинового профиля, ориентированного на Т-хелпер-2 (Th2) тип иммунного ответа, способствующих выживанию и устойчивости к апоптозу эозинофильных гранулоцитов [3, 17, 23].

Целью настоящего исследования явилось определение субпопуляционного состава лимфоцитов и цитокинпродуцирующей способности мононуклеарных клеток при лимфопролиферативных заболеваниях системы крови, ассоциированных с высокой эозинофилией.

## Материалы и методы

Обследовали 75 пациентов со злокачественными заболеваниями системы крови, ассоциированными с выраженной эозинофилией периферической крови ( $> 15\%$  эозинофилов в гемограмме) (32 мужчины, 43 женщины в возрасте от 18 до 55 лет). Из них 30 больных лимфогранулематозом (12 — со смешанно-клеточным вариантом заболевания во II или III стадии, 18 — с нодулярным склерозом II или III стадии), 20 пациентов с неходжкинскими лимфомами, 25 больных множественной миеломой (МКБ-10). Клинически и анамнестически у всех обследованных лиц были исключены обострение хронических заболеваний, наследственные и психические болезни, а также злоупотребление алкоголем и наркотическая зависимость. Группу сравнения составили 28 пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями системы крови (из них: 8 больных лимфогранулематозом, 10 — неходжкинскими лимфомами, 10 — множественной миеломой) без синдрома эозинофилии с сопоставимыми характеристиками по полу и возра-

сту. Все пациенты были обследованы до назначения терапии при поступлении в стационар. Контрольную группу составили 22 практически здоровых доноров с сопоставимыми характеристиками по полу и возрасту. Материалом исследования являлась венозная кровь обследованных лиц, взятая утром до приема пищи (кровь стабилизировали гепарином 25 Ед/мл).

Подсчет отдельных морфологических форм лейкоцитов проводили общепринятыми гематологическими методами [10, 14]. Мононуклеарные клетки выделяли, используя градиент плотности фикол-верографина ( $1,077 \text{ г/см}^3$ ) («Amersham Biosciences», Швеция). Для получения супернатантов выделенные мононуклеарные лейкоциты ресуспендировали в полной питательной среде, состоящей из  $90\%$  RPMI-1640,  $10\%$  инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки («Sigma», США),  $0,3 \text{ мг/мл}$  L-глутамина,  $100 \text{ мкг/мл}$  гентамицина,  $2 \text{ мМ/мл}$  HEPES («Flow», Великобритания). Стандартизировали количество клеток в суспензии до  $2,5 \times 10^6/\text{мл}$ . Для стимуляции секреторной способности мононуклеаров в пробы вносили  $10 \text{ мкг/мл}$  фитогемагглютинаина (ФГА) («Sigma», США). Клеточные суспензии в количестве  $1,5 \text{ мл}$  инкубировали при  $37^\circ\text{C}$  и  $5\% \text{ CO}_2$  на протяжении 24 ч. Супернатанты собирали и использовали для количественного определения цитокинов.

Для определения уровней продукции интерлейкина (IL)-3, IL-4, IL-5, гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) (спонтанной и ФГА-стимулированной) мононуклеарными клетками периферической крови и в сыворотке крови — эотаксина, использовали твердофазный иммуноферментный «сэндвичевый» метод (ELISA). Процедуру выполнения ИФА проводили по инструкции, предлагаемой производителем тест-систем «Biosource» (Бельгия). Для определения резервных способностей клеток секретировать цитокины рассчитывали индекс стимуляции (ИС), равный отношению стимулированной продукции к базальной.

Определение маркеров клеточной дифференцировки ( $\text{CD3}^+$ ,  $\text{CD4}^+$ ,  $\text{CD8}^+$ ,  $\text{CD22}^+$ ) проводили на выделенных лимфоцитах периферической крови иммуноцитохимическим методом с использованием наборов реагентов фирмы «Dako» (Дания) [13].

При оценке полученных данных использовали методы статистического описания и проверки статистических гипотез. Проверку нормальности распределения количественных показателей проводили с использованием критерия Shapiro-Wilk's. При соответствии нормальному закону распределения признака в исследуемых выборках проверку гипотезы о равенстве средних выбороч-

ных величин проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа. Для оценки достоверности различий выборок, не подчиняющихся критерию нормального распределения, использовали критерий Kruskal-Wallis. Различие двух сравниваемых величин считали достоверным при уровне значимости  $p < 0,05$  [4].

## Результаты и обсуждение

Синдром эозинофилии при злокачественных заболеваниях системы крови встречается достаточно редко, но имеет большое диагностическое значение, подчас являясь одним из ранних симптомов начальной стадии опухолевой прогрессии [3, 7]. На сегодняшний день имеются сообщения о том, что именно с феноменом эозинофилии нередко связаны позитивные результаты иммунотерапии рекомбинантными белками при опухолях различной локализации, в том числе и при гемобластозах [2, 3].

Как показало проведенное исследование, у пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями системы крови выявлялось существенное увеличение абсолютного и относительного содержания эозинофильных гранулоцитов в периферической крови по сравнению с нормальными значениями и показателями у больных гемобластозами без синдрома эозинофилии (табл. 1).

Механизм развития эозинофилии при злокачественных заболеваниях весьма сложен. Так, формирование синдрома эозинофилии при опу-

холевом процессе может иметь прямой, не опосредованный через иммунную систему, путь развития, связанный с продукцией клетками некоторых опухолей хемотаксических факторов [3, 6, 24]. Вместе с тем, эозинофильная реакция может рассматриваться как своеобразный «иммунный ответ» на антигенную стимуляцию опухолевой тканью. Следует отметить, что нарушение реализации кооперативного взаимодействия лимфоцитов и эозинофилов может обуславливать дисрегуляцию процессов созревания, дифференцировки и активации эозинофилов, что способствует длительному пребыванию последних в периферической крови [3, 6, 7].

Многочисленные исследования особенностей реагирования системы иммунитета на различные антигенные структуры как в норме, так и при типовых патологических процессах, свидетельствуют о том, что ключевая роль в реализации адекватного иммунного ответа принадлежит иммуннокомпетентным клеткам периферической крови, в частности, лимфоцитам [9].

Проведенный нами анализ показателей, характеризующих субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови у пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями системы крови, сопровождающимися длительной эозинофилией крови и у больных гемобластозами без синдрома эозинофилии, позволил выявить выраженные изменения численного соотношения субпопуляций лимфоцитов. Так, при исследовании

**ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ ЭОЗИНОФИЛОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИМИ ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ, СОПРОВОЖДАЮЩИМИСЯ ЭОЗИНОФИЛИЕЙ ( $\bar{X} \pm m$ )**

Характеристика обследованных	Эозинофилы	
	Относительное содержание, %	Абсолютное содержание, $10^9/\text{л}$
Здоровые доноры	$2,18 \pm 0,06$	$0,10 \pm 0,01$
Пациенты с гемобластозами без синдрома эозинофилии	$3,09 \pm 0,04$ $p_1 > 0,05$	$0,15 \pm 0,01$ $p_1 > 0,05$
Пациенты с лимфогранулематозом	$25,79 \pm 4,29$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$1,95 \pm 0,01$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Пациенты с лимфомами (неходжскинские)	$15,18 \pm 2,66$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$ $p_3 < 0,05$	$0,69 \pm 0,02$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$ $p_3 < 0,05$
Пациенты с множественной миеломой	$16,86 \pm 2,63$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$ $p_3 > 0,05$ $p_4 > 0,05$	$0,74 \pm 0,01$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$ $p_3 > 0,05$ $p_4 > 0,05$

**Примечание:**

$p_1$  – достоверность различий по сравнению с аналогичными параметрами у здоровых доноров;

$p_2$  – у пациентов с гемобластозами без синдрома эозинофилии;

$p_3$  – у пациентов с лимфогранулематозом;

$p_4$  – у пациентов с лимфомами (неходжскинскими).

ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИМИ ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ, СОПРОВОЖДАЮЩИМИСЯ ЭОЗИНОФИЛИЕЙ ( $\bar{x} \pm m$ )

Характеристика обследованных	Показатели											
	CD3			CD4			CD8			CD22		
	%	10 <sup>9</sup> /л		%	10 <sup>9</sup> /л		%	10 <sup>9</sup> /л		%	10 <sup>9</sup> /л	CD4/CD8
Здоровые доноры	1	65,9±1,75	1,72±0,02	41,72±2,31	1,09±0,02	29,18±3,73	0,76±0,05	15,54±0,37	0,39±0,01	1,51±0,09		
Пациенты с гемобластозами без синдрома эозинофилии	2	43,32±2,29	0,71±0,01	30,08±3,20	0,53±0,02	28,90±0,67	0,38±0,02	20,09±2,09	0,19±0,01	1,08±0,03		
Пациенты с лимфогранулематозом	3	55,32±2,22	0,79±0,01	33,66±1,88	0,49±0,06	33,25±2,05	0,43±0,04	19,16±1,12	0,24±0,04	1,07±0,09		
Пациенты с множественной миеломой	4	48,83±2,68	0,62±0,02	27,91±1,81	0,35±0,05	24,75±2,06	0,29±0,03	17,58±0,79	0,23±0,01	1,24±0,01		
Пациенты с неходжкинскими лимфомами	5	38,16±1,92	0,46±0,05	28,66±1,41	0,33±0,03	30,08±1,13	0,35±0,03	15,83±0,52	0,19±0,02	0,99±0,03		
р межгрупповая		0,027	0,001	0,003	0,037	0,017	0,008	0,012	0,001	0,049		
р парные		p <sub>1-2</sub> = 0,029	p <sub>1-2</sub> = 0,031	p <sub>1-2</sub> = 0,045	p <sub>1-2</sub> = 0,030	p <sub>1-2</sub> = 0,077	p <sub>1-2</sub> = 0,020	p <sub>1-2</sub> = 0,080	p <sub>1-2</sub> = 0,040	p <sub>1-2</sub> = 0,040		
		p <sub>1-3</sub> = 0,041	p <sub>1-3</sub> = 0,041	p <sub>1-3</sub> = 0,014	p <sub>1-3</sub> = 0,036	p <sub>1-3</sub> = 0,051	p <sub>1-3</sub> = 0,014	p <sub>1-3</sub> = 0,041	p <sub>1-3</sub> = 0,031	p <sub>1-3</sub> = 0,031		
		p <sub>1-4</sub> = 0,025	p <sub>1-4</sub> = 0,015	p <sub>1-4</sub> = 0,035	p <sub>1-4</sub> = 0,011	p <sub>1-4</sub> = 0,060	p <sub>1-4</sub> = 0,039	p <sub>1-4</sub> = 0,076	p <sub>1-4</sub> = 0,025	p <sub>1-4</sub> = 0,025		
		p <sub>1-5</sub> = 0,011	p <sub>1-5</sub> = 0,021	p <sub>1-5</sub> = 0,041	p <sub>1-5</sub> = 0,016	p <sub>1-5</sub> = 0,160	p <sub>1-5</sub> = 0,038	p <sub>1-5</sub> = 0,081	p <sub>1-5</sub> = 0,041	p <sub>1-5</sub> = 0,041		
		p <sub>2-3</sub> = 0,046	p <sub>2-3</sub> = 0,061	p <sub>2-3</sub> = 0,076	p <sub>2-3</sub> = 0,055	p <sub>2-3</sub> = 0,057	p <sub>2-3</sub> = 0,060	p <sub>2-3</sub> = 0,056	p <sub>2-3</sub> = 0,080	p <sub>2-3</sub> = 0,080		
		p <sub>2-4</sub> = 0,089	p <sub>2-4</sub> = 0,034	p <sub>2-4</sub> = 0,059	p <sub>2-4</sub> = 0,038	p <sub>2-4</sub> = 0,070	p <sub>2-4</sub> = 0,059	p <sub>2-4</sub> = 0,076	p <sub>2-4</sub> = 0,052	p <sub>2-4</sub> = 0,051		
		p <sub>2-5</sub> = 0,032	p <sub>2-5</sub> = 0,024	p <sub>2-5</sub> = 0,090	p <sub>2-5</sub> = 0,044	p <sub>2-5</sub> = 0,056	p <sub>2-5</sub> = 0,091	p <sub>2-5</sub> = 0,081	p <sub>2-5</sub> = 0,068	p <sub>2-5</sub> = 0,065		
		p <sub>3-4</sub> = 0,015	p <sub>3-4</sub> = 0,056	p <sub>3-4</sub> = 0,025	p <sub>3-4</sub> = 0,061	p <sub>3-4</sub> = 0,037	p <sub>3-4</sub> = 0,021	p <sub>3-4</sub> = 0,101	p <sub>3-4</sub> = 0,057	p <sub>3-4</sub> = 0,067		
		p <sub>3-5</sub> = 0,025	p <sub>3-5</sub> = 0,045	p <sub>3-5</sub> = 0,065	p <sub>3-5</sub> = 0,029	p <sub>3-5</sub> = 0,055	p <sub>3-5</sub> = 0,090	p <sub>3-5</sub> = 0,035	p <sub>3-5</sub> = 0,066	p <sub>3-5</sub> = 0,053		
		p <sub>4-5</sub> = 0,045	p <sub>4-5</sub> = 0,036	p <sub>4-5</sub> = 0,059	p <sub>4-5</sub> = 0,075	p <sub>4-5</sub> = 0,048	p <sub>4-5</sub> = 0,058	p <sub>4-5</sub> = 0,051	p <sub>4-5</sub> = 0,051	p <sub>4-5</sub> = 0,104		

Т-клеточного звена иммунитета у больных гемобластозами вне зависимости от нозологии и наличия эозинофилии периферической крови отмечалось значительное снижение абсолютного и относительного содержания CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> клеток, показателей соотношения (CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>) по сравнению с соответствующими значениями у лиц контрольной группы (табл. 2).

Полученные нами данные подтверждаются результатами других исследователей, согласно которым злокачественные заболевания, в частности, гемобластоzy, сопровождаются значительными нарушениями функционирования иммунной системы [5, 6, 7]. Последнее обстоятельство может быть обусловлено способностью опухолевых клеток индуцировать иммуносупрессию, которая, в свою очередь, может проявляться в широком диапазоне: от слабого иммунного ответа до анергии. Именно супрессией объясняют неэффективность противоопухолевой терапии, направленной на стимуляцию иммунных механизмов у больных злокачественными заболеваниями. В то же время закономерности формирования иммунологической недостаточности, причины и механизмы, приводящие к снижению реактивности иммунной системы, до сих пор четко не определены [6, 15].

Известно, что опухолевый процесс представляет собой параллельное существование двух систем: иммунокомпетентные клетки — цитокины и опухолевые клетки — цитокины. Согласно современным представлениям, изменения в системе иммунорегуляторных молекул при злокачественных заболеваниях системы крови могут проявляться дисбалансом продукции медиаторов с превалированием Th2-цитокинов, что может иметь важное патогенетическое значение в реализации патогенеза гемобластоzy, ассоциированных с высокой эозинофилией периферической крови [2, 8, 23, 24]. По данным ряда исследователей, эозинофилия, ассоциированная с лимфопролиферативными заболеваниями, связана с продукцией эозинофилстимулирующих цитокинов, таких как IL-5, IL-3 и GM-CSF [2, 3, 19].

В ходе проведенного исследования у пациентов со злокачественными заболеваниями системы крови, сопровождающихся синдромом эозинофилии, был выявлен существенный дисбаланс секреции мононуклеарами ключевых медиаторов, принимающих участие в пролиферации, дифференцировке и последующей активации эозинофильных гранулоцитов (табл. 3). Так, у больных гемобластозами, ассоциированными с выраженной эозинофилией периферической крови, отмечалось значимое увеличение уровней спонтанной продукции IL-3, IL-5 и GM-CSF мононуклеарными клетками периферической крови по сравнению с аналогичными значениями здоровых доноров и пациентов со злокачественными заболеваниями системы крови без синдрома эозинофилии. Следует отметить, что значения ИС секреции IL-3, IL-5, GM-CSF у больных гемобластозами, ассоциированными с высокой степенью эозинофилии, снижались более чем в 2 раза по сравнению с его уровнем у здоровых доноров, не отличаясь от показателей пациентов без эозинофилии (табл. 3). Данное обстоятельство, по-видимому, может свидетельствовать об угнетении потенциального резерва Th-2 субпопуляции лимфоцитов секретировать иммуноцитокины при вышеуказанных заболеваниях в условиях стимуляции их внутриклеточного метаболизма [17, 22].

Установлено, что специфические для клеточных линий эффекты медиаторов на дифференцированные клетки, несущие гемопоэтические цитокиновые рецепторы на своей поверхности, приводят к «активации» или «включению» фенотипа «IL-3, IL-5, GM-CSF» [11]. Так, IL-5 наряду с IL-3 и GM-CSF стимулирует дифференцировку эозинофилов из костномозговых клеток-предшественниц, активирует их дегрануляцию и высвобождение цитотоксичных протеинов, регулирует экспрессию интегриновых молекул, приводящих к увеличению циркулирующих эозинофилов, и посредством ингибирования апоптотической гибели лейкоцитов эозинофильного ряда пролонгирует время их жизни [17, 20, 21].

При сравнительном анализе уровней спонтанной и ФГА-стимулированной продукции IL-4 мононуклеарными клетками периферической крови у пациентов со злокачественными заболеваниями системы крови, ассоциированными с синдромом эозинофилии, так и без такового, обращало на себя внимание существенное их снижение по сравнению с нормальными значениями (рис. 1).

Известно, что IL-4 в синергизме с другими цитокинами оказывает множественное воздействие на иммунную систему [8, 12]. IL-4 — мощный индуктор накопления эозинофилов *in vivo*. Так, IL-4 в дозоременной зависимости стиму-

лирует mRNA эотаксина в фибробластах кожи, что при комплексном воздействии с IL-5, TNF $\alpha$ ,  $\beta$ 2-интегринами и молекулами адгезии сосудов приводит к десятикратному увеличению трех различных биохимических форм эотаксина [3, 18]. Вместе с тем, IL-4 и TNF $\alpha$  в присутствии IL-13 обладают способностью активировать эозинофилы *in vitro* путем повышения на мембране последних презентации CD69, обуславливая тем самым снижение апоптотической гибели эозинофильных гранулоцитов. Подобный синергический эффект наблюдается также при сочетании IL-4 и IL-13 с IL-5 [6]. Следует отметить, что эозинофильные гранулоциты способны самостоятельно секретировать IL-4, избыточные концентрации которого вызывают усиление адгезии эозинофилов и базофилов к эндотелию сосудов, привлекая в очаг воспаления дополнительные порции лейкоцитов эозинофильного ряда [2].

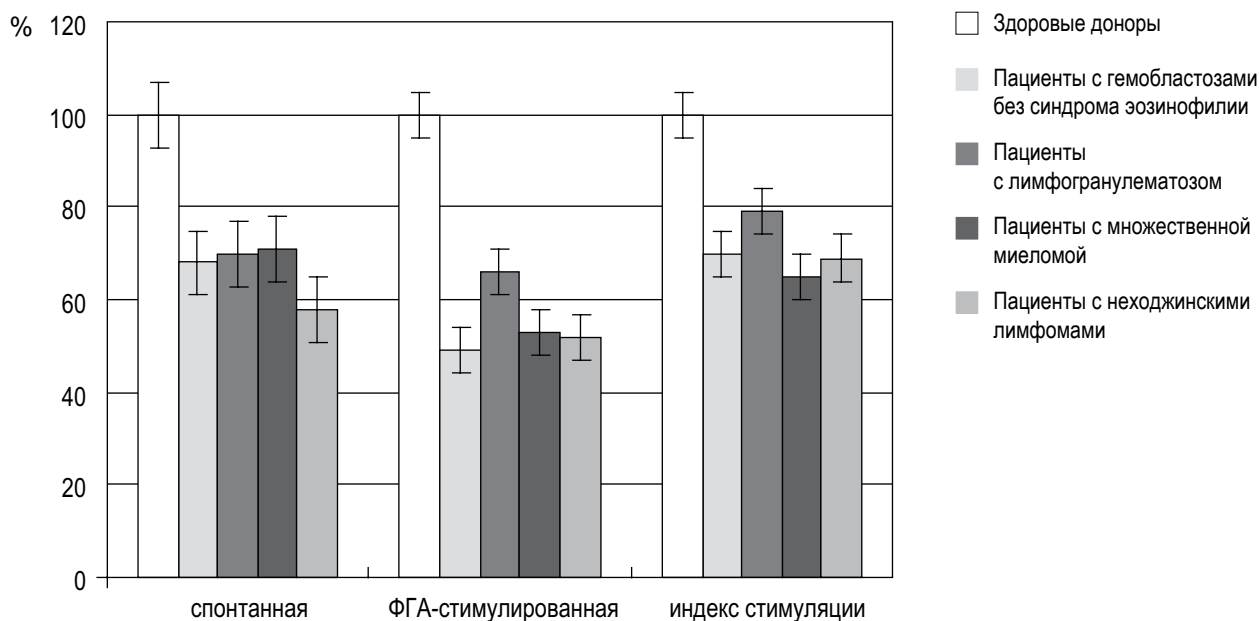
Формирование высокой эозинофилии при гемобластозах может быть опосредовано действием эотаксина — хемокина, специфично действующего в отношении эозинофилов, который наряду с IL-5 обуславливает усиление мобилизации последних из костного мозга в кровь [21]. Основными продуцентами данного медиатора являются эпителиальные клетки и эозинофильные гранулоциты. На различных моделях *in vivo* показано, что эотаксин привлекает в очаг аллергического воспаления исключительно эозинофилы [2, 3, 21]. Эотаксин неактивен в отношении нейтрофилов и моноцитов, однако является слабым хемоаттрактантом для Т-лимфоцитов, преактивированных IL-2, и базофильных лейкоцитов. Последние способствуют повышению экспрессии mRNA эотаксина в эпителиальных клетках и уровня эотаксина в дыхательных путях при бронхиальной астме [3, 21].

При исследовании уровня эотаксина в сыворотке крови у пациентов с гемобластозами, сопровождающимися синдромом эозинофилии, было выявлено его значительное повышение у больных лимфогранулематозом. У больных множественной миеломой и лимфомами значения данного показателя не отличались от контроля и аналогичных параметров у пациентов без эозинофилии (рис. 2).

Как известно, гемобластоzy — опухоли, состоящие из цитокинреагирующих клеток. При этом опухолевые клетки кроветворной системы способны сами продуцировать цитокины в качестве аутокринных ростовых факторов: IL-6 — при миеломе [7, 15], волосатоклеточном лейкозе, саркоме Капоши, карциноме почки [19]; TNF $\alpha$  — при лейкемии, нейробластоме [8]; IL-10 — при лимфоме [6, 24]. Генетически измененные клетки могут стимулировать ближайшие иммуннокомпетентные

ТАБЛИЦА 3. БАЗАЛЬНАЯ И СТИМУЛИРОВАННАЯ ПРОДУКЦИЯ ЦИТОКИНОВ МОНОКЛЕАРНЫМИ КЛЕТКАМИ (пг/мл) И ИНДЕКС СТИМУЛЯЦИИ (ИС) У ПАЦИЕНТОВ С ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИМИ ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ, СОПРОВОЖДАЮЩИМИСЯ ЭОЗИНОФИЛИЕЙ (Ме (Q1-Q3))

Характеристика обследованных		Продукция цитокинов									
		IL-5				IL-3				GM-CSF	
		базальная	ФГА-стимулированная	ИС	базальная	ФГА-стимулированная	ИС	базальная	ФГА-стимулированная	ИС	ИС
Здоровые доноры	1	96,5 (89,0-105,0)	164,0 (158,0-190,0)	2,03 (1,88-2,36)	13,27 (12,08-13,04)	28,12 (23,77-42,31)	1,96 (1,68-2,30)	6,23 (6,10-7,56)	10,08 (9,42-13,02)	2,07 (1,84-2,18)	
Пациенты с гемобластозами без синдрома эозинофилии	2	113,17 (78,02-145,98)	145,01 (110,0-167,2)	1,32 (1,21-1,49)	10,04 (7,49-12,21)	16,67 (12,38-18,24)	1,28 (1,05-1,39)	9,01 (6,78-11,39)	12,29 (9,32-14,21)	1,33 (1,22-1,41)	
Пациенты с лимфогранулематозом	3	270,5 (192,0-315,1)	517,0 (212,5-651,5)	1,43 (1,36-1,52)	21,91 (16,02-39,08)	40,16 (30,87-48,77)	1,37 (1,19-1,52)	17,75 (2,87-52,21)	37,84 (2,55-128,5)	1,48 (1,28-1,66)	
Пациенты с множественной миеломой	4	394,0 (269,0-692,0)	280,0 (110,0-394,0)	0,88 (0,73-0,95)	34,25 (28,34-44,46)	32,10 (30,09-40,70)	0,66 (0,44-0,73)	12,12 (2,35-19,35)	21,17 (1,60-114,0)	1,63 (1,40-1,84)	
Пациенты с неходжкинскими лимфомами	5	195,5 (161,0-269,0)	292,5 (280,0-394,0)	1,08 (0,96-1,28)	29,68 (9,60-33,71)	30,22 (10,14-36,40)	1,52 (1,36-1,78)	48,64 (16,21-133,9)	25,55 (5,53-60,41)	0,59 (0,38-0,82)	
р межгрупповая		0,001	0,001	0,019	0,041	0,031	0,001	0,021	0,019	0,039	
р парные		p <sub>1-2</sub> = 0,053	p <sub>1-2</sub> = 0,070	p <sub>1-2</sub> = 0,010	p <sub>1-2</sub> = 0,060	p <sub>1-2</sub> = 0,067	p <sub>1-2</sub> = 0,054	p <sub>1-2</sub> = 0,051	p <sub>1-2</sub> = 0,053	p <sub>1-2</sub> = 0,031	
		p <sub>1-3</sub> = 0,041	p <sub>1-3</sub> = 0,041	p <sub>1-3</sub> = 0,028	p <sub>1-3</sub> = 0,031	p <sub>1-3</sub> = 0,023	p <sub>1-3</sub> = 0,037	p <sub>1-3</sub> = 0,041	p <sub>1-3</sub> = 0,038	p <sub>1-3</sub> = 0,018	
		p <sub>1-4</sub> = 0,035	p <sub>1-4</sub> = 0,045	p <sub>1-4</sub> = 0,001	p <sub>1-4</sub> = 0,034	p <sub>1-4</sub> = 0,054	p <sub>1-4</sub> = 0,029	p <sub>1-4</sub> = 0,026	p <sub>1-4</sub> = 0,001	p <sub>1-4</sub> = 0,049	
		p <sub>1-5</sub> = 0,001	p <sub>1-5</sub> = 0,014	p <sub>1-5</sub> = 0,001	p <sub>1-5</sub> = 0,041	p <sub>1-5</sub> = 0,051	p <sub>1-5</sub> = 0,014	p <sub>1-5</sub> = 0,036	p <sub>1-5</sub> = 0,001	p <sub>1-5</sub> = 0,025	
		p <sub>2-3</sub> = 0,001	p <sub>2-3</sub> = 0,033	p <sub>2-3</sub> = 0,051	p <sub>2-3</sub> = 0,021	p <sub>2-3</sub> = 0,012	p <sub>2-3</sub> = 0,052	p <sub>2-3</sub> = 0,026	p <sub>2-3</sub> = 0,008	p <sub>2-3</sub> = 0,063	
		p <sub>2-4</sub> = 0,034	p <sub>2-4</sub> = 0,021	p <sub>2-4</sub> = 0,021	p <sub>2-4</sub> = 0,030	p <sub>2-4</sub> = 0,030	p <sub>2-4</sub> = 0,034	p <sub>2-4</sub> = 0,049	p <sub>2-4</sub> = 0,022	p <sub>2-4</sub> = 0,055	
		p <sub>2-5</sub> = 0,009	p <sub>2-5</sub> = 0,014	p <sub>2-5</sub> = 0,056	p <sub>2-5</sub> = 0,011	p <sub>2-5</sub> = 0,031	p <sub>2-5</sub> = 0,061	p <sub>2-5</sub> = 0,011	p <sub>2-5</sub> = 0,048	p <sub>2-5</sub> = 0,045	
		p <sub>3-4</sub> = 0,015	p <sub>3-4</sub> = 0,023	p <sub>3-4</sub> = 0,045	p <sub>3-4</sub> = 0,054	p <sub>3-4</sub> = 0,080	p <sub>3-4</sub> = 0,001	p <sub>3-4</sub> = 0,075	p <sub>3-4</sub> = 0,035	p <sub>3-4</sub> = 0,054	
		p <sub>3-5</sub> = 0,070	p <sub>3-5</sub> = 0,034	p <sub>3-5</sub> = 0,064	p <sub>3-5</sub> = 0,059	p <sub>3-5</sub> = 0,019	p <sub>3-5</sub> = 0,066	p <sub>3-5</sub> = 0,010	p <sub>3-5</sub> = 0,060	p <sub>3-5</sub> = 0,015	
		p <sub>4-5</sub> = 0,026	p <sub>4-5</sub> = 0,067	p <sub>4-5</sub> = 0,057	p <sub>4-5</sub> = 0,097	p <sub>4-5</sub> = 0,071	p <sub>4-5</sub> = 0,025	p <sub>4-5</sub> = 0,023	p <sub>4-5</sub> = 0,053	p <sub>4-5</sub> = 0,024	



**Рисунок 1. Продукция IL-4 мононуклеарными клетками периферической крови у пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями системы крови, ассоциированными с синдромом эозинофилии**

клетки к продукции цитокинов — паракринных ростовых факторов: IL-6 — при миеломе; IL-10, IL-2, TNF $\alpha$  — при лимфомах [7, 8, 19]. Так, синдром эозинофилии, сопровождающий течение злокачественных заболеваний системы крови, может быть обусловлен избыточной продукцией лейкозными клетками эозинофилстимулирующих цитокинов [3, 8, 21]. Показано, что опухолевые клетки, обладающие фенотипом CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> или CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>, имеют клональную реанжировку Т-клеточного рецептора и секретируют избыточные количества цитокинов, стимулирующих эозинофилопоэз, среди которых превалирует продукция IL-5 [17, 20]. Таким образом, предполагаемой причиной стойкой эозинофилии крови при лимфопролиферативных заболеваниях системы крови может являться нарушение продукции хемотаксических факторов, вырабатываемых как иммунокомпетентными клетками, так и опухолевыми клетками системы крови.

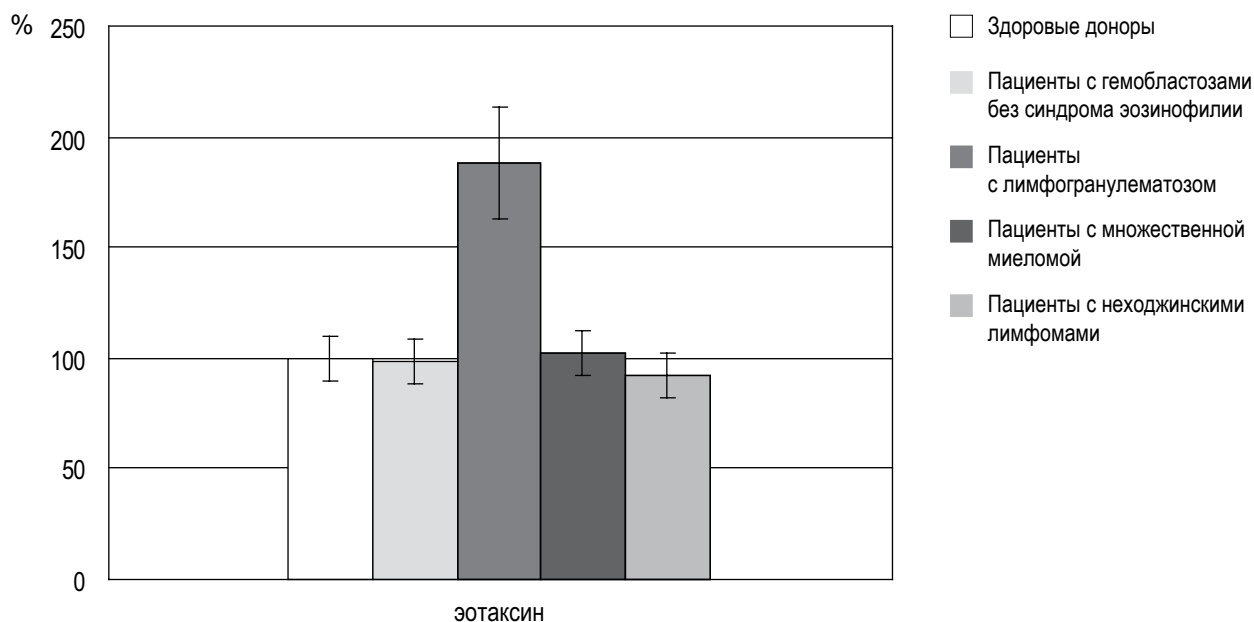
Таким образом, злокачественные заболевания системы крови, ассоциированные с синдромом эозинофилии, сопровождаются нарушением продукции мононуклеарными клетками периферической крови ряда ключевых цитокинов (IL-3, IL-5, GM-CSF), регулирующих процессы пролиферации, дифференцировки и активации лейкоцитов эозинофильного ряда. Механизмы формирования синдрома эозинофилии при гемобластозах, вероятно, сопряжены с нарушением кооперативного взаимодействия иммунокомпетентных клеток и эозинофилов.

Исследование выполнено в рамках Федеральной целевой научно-технической про-

граммы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники на 2002-2006 годы» (Государственные контракты № 02.442.11.7056, № 02.445.11.7110 и № 02.445.11.7419), а также при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации для поддержки ведущих научных школ Российской Федерации № НШ-1051.2003.4 и № НШ-4153.2006.7.

## Список литературы

1. Беклемишев И.Д. Положительные обратные связи в механизмах иммунного ответа // Иммунология. — 1998. — № 5. — С. 15-20.
2. Бережная Н.М. Интерлейкины и формирование иммунологического ответа при злокачественном росте // Аллергология и иммунология. — 2000. — Т. 1, № 1. — С. 45-61.
3. Бережная Н.М., Чехун В.Ф., Сепиашвили Р.И. Эозинофилы, базофилы и иммуноглобулин Е в противоопухолевой защите // Аллергология и иммунология. — 2005. — Т. 6, № 1. — С. 38-49.
4. Боровиков В. Statistica. Искусство анализа данных на компьютере. — СПб., М., Харьков, Минск, 2001. — 306 с.
5. Волкова М.А. Клиническая онкогематология. — М.: Медицина, 2001. — 572 с.
6. Воробьев А.И. Руководство по гематологии. — М.: Москва, 2002. — Т. 1. — 280 с.
7. Воробьев А.И., Кременецкая А.М., Лорие Ю.Ю., Харазисвили Д.В., Шкловский-Корди Н.Е. «Старые» и «новые» опухоли лим-



**Рисунок 2. Содержание эотаксина в сыворотке крови у пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями системы крови, ассоциированными с синдромом эозинофилии**

фатической системы // Терапевт. арх. — 2000. — № 7. — С. 9-13.

8. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Жданов В.В. Динамическая теория регуляции кроветворения и роль цитокинов в регуляции гемопоэза // Мед. иммунология. — 2001. — Т. 3, № 4. — С. 487-497.

9. Кетлинский С.А. Роль Т-хелперов 1 и 2 в регуляции клеточного и гуморального иммунитета // Иммунология. — 2002. — № 2. — С. 77-79.

10. Лабораторные методы исследования в клинике / Под ред. В.В. Меньшикова. — М.: Медицина, 1987. — 367 с.

11. Минеев В.Н., Иванова В.В., Нестерович И.И. Костный мозг и эффекторные клетки при аллергии // Аллергология. — 2000. — № 5. — С. 27-35.

12. Симбирцев А.С. Цитокины: классификация и биологические функции // Цитокины и воспаление. — 2004. — № 2. — С. 16-21.

13. Тотолян А.А., Балдуева И.А., Бубнова Л.Н., Закревская А.В., Зуева Е.Е., Калинина Н.М., Лисицина З.Н. Стандартизация методов иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга человека // Клинич. лаб. диагностика. — 2002. — № 1. — С. 44-50.

14. Хейхоу Ф.Г.Дж., Кваглино Д. Гематологическая цитохимия. — М.: Москва, 1983. — 230 с.

15. Чубукина Ж.В., Бубнова Л.Н., Бессмельцев С.С. Особенности клеточного иммунитета у больных множественной миеломой // Мед. иммунология. — 2006. — Т. 8, № 2-3. — С. 356.

16. Ярилин А.А. Межклеточная кооперация при иммунном ответе // Вестн. РАМН. — 1999. — № 4. — С. 25-29.

17. Barnes P.J. Differential regulation of human eosinophil IL-3, IL-5, and GM-CSF receptor alpha-chain expression by cytokines // J. Immunol. — 2003. — Vol. 1, N 4. — P. 167-175.

18. Mainou-Fowler T., Proctor S.J., Taylor P.R. Interleukin 4 production by peripheral blood lymphocytes in patients with classical Hodgkin lymphoma // Leuk. Res. — 2004. — Vol. 28, N 2. — P. 159-166.

19. Merz H., Flidner A., Orscheschek K. Cytokine expression in T-cell lymphomas and Hodgkin's disease. Its possible implication in autocrine or paracrine production as a potential basis for neoplastic growth // Am. J. Pathol. — 1991. — Vol. 139, N 5. — P. 1173-1180.

20. Mordvinov V.A., Sanderson C.J. Regulation of IL-5 expression // Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz). — 2001. — Vol. 5, N 2. — P. 345-351.

21. Nagase H., Miyamasu M., Yamaguchi M. Regulation of chemokine receptor expression in eosinophils // Int. Arch. Allergy Immunol. — 2001. — Vol. 1, N 8. — P. 29-32.

22. Newcom S.R., Ansari A.A., Gu L. Interleukin-4 is an autocrine growth factor secreted by the L-428 Reed-Sternberg cell // Blood. — 1992. — Vol. 79, N 1. — P. 191-197.

23. Pritchard D. I., Ohta A., Tashiro T., Ustun S., Yang M. Manipulation of Th1/Th2 balance in vivo by adoptive transfer of antigen-specific Th1 or Th2 cells // Clin. Rev. Allergy Immunol. — 1993. — Vol. 15, N 3. — P. 45-68.

24. Serrano D., Ghiotto F., Roncella S. The patterns of IL2, IFN-gamma, IL4 and IL5 gene expression in Hodgkin's disease and reactive lymph nodes are similar // Haematologica. — 1997. — Vol. 82, N 5. — P. 542-549.

поступила в редакцию 20.11.2006

отправлена на доработку 29.11.2006

принята к печати 16.01.2007