

*О.Ф.МЕЛЬНИКОВ, О.Н.БОРИСЕНКО, А.Ю.МИНИНА*

## **СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УРОВНЕЙ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ И АНТИТЕЛ К ТКАНЕВЫМ АНТИГЕНАМ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ НЕРВОВ У БОЛЬНЫХ АКУСТИЧЕСКОЙ НЕВРИНОМОЙ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДАХ ЛЕЧЕНИЯ**

*ГУ «Институт отоларингологии им. проф. А.И. Коломийченко  
НАМН Украины» (дир. – акад. НАМН Украины, проф. Д.И. Заболотный)*

В настоящее время благодаря развитию молекулярной и клинической иммунологии стало возможным проведение не только клиничко-иммунологической диагностики первичной и рецидивирующей акустической невриномы (АН), но и определение влияния АН на реакции иммунной системы организма.

Иммунодиагностика на сегодняшний день, является одним из методов обнаружения некоторых опухолей мозга, желудочно-кишечного тракта, дыхательных путей [6].

Вместе с тем известно, что данные использования для диагностики методов общей иммунологии (определение лимфоцитов различных популяций, иммуноглобулинов, активности фагоцитоза, комплемента) не являются достоверными и характерными для АН [8].

Для ранней диагностики опухолей применяются методы определения специфических для них маркеров или характерного иммунного ответа на специфический антиген новообразования (антиген нервной ткани, соединительной или эпителиальной тканей), а также выявления некоторых белков-регуляторов и цитокинов [1].

В связи с приведенными выше данными представляет научно-практический интерес результаты сравнительных иммунологических исследований у больных с впервые выявленной АН в динамике лечения различными методами.

### ***Материал и методы***

Под нашим наблюдением находилось 43 больных с диагнозом акустической нев-

риномы (АН). Из них было 17 мужчин и 26 женщин. Левосторонняя локализация АН отмечена у 21, правосторонняя у 22 пациентов. В зависимости от характера лечения все обследуемые были подразделены на 3 группы: 1-ю составили 15 человек, находившихся под наблюдением «scan and wait», 2-ю – 15 лиц, перенесших хирургическое вмешательство, 3-ю – 13 пациентов, подвергшихся радиохирургии.

У больных, которые наблюдались «scan and wait», контроль МРТ проводился раз в полгода, год с введением контрастного вещества (гадолиний) и в режиме Ciss 3D. При этом у 4 из них наблюдались стабильные МРТ показатели с отсутствием роста АН, у 11 – имелась тенденция к росту опухоли.

При хирургическом вмешательстве у 15 пациентов тотально удалено новообразование. Из них у 7 выполнялся ретросигмоидальный, у 6 – транслабиринтный доступы, а у 2 произведено удаление опухоли через среднюю черепную ямку. При этом, согласно классификации Portmann (1965), II стадия АН определена у 3 больных, III – у 7, а IV – у 5.

Радиохирургическое лечение было проведено у 13 человек. Из них у 9 выполнена радиохирургия на установке Gamma Knife, у 4 - облучение на линейном ускорителе. Предписанная доза на край опухоли составляла не более 12 Гр по 50% изодозной кривой на Leksell Gamma Knife и 80-90% изодозной кривой при облучении на линейном ускорителе. МРТ контроль за ростом новообразования проводился раз в

полгода у больных в первый год наблюдения и раз в два года при дальнейшем контроле. После лечения у 7 пациентов отсутствовала тенденция к дальнейшему росту, диаметр опухоли сохранялся в течение всего периода наблюдений (не более 5 лет), а у 6 с АН последняя уменьшилась в размерах.

Иммунологические исследования были проведены до, а также в динамике после лечения и в группе больных с АН, находящихся под наблюдением. Кроме того, было обследовано 15 практически здоровых доноров в возрасте от 16 до 50 лет, которые составили контрольную группу. Определялось содержание иммуноглобулинов классов М, G, А, Е в сыворотке крови, антитела класса Е к антигену соединительной ткани (антиген Cole), полученному при трипсинизации соединительной ткани лимфоузлов человека [10], и к основному белку миелина (ОБМ), предоставленному для исследований Институтом нейрохирургии НАМН Украины. Для исследования IgE-антител к указанным антигенам применялся метод дегрануляции ксеногенных тканевых базофилов в присутствии антигена и исследуемой сыворотки [4]; результат выражался в виде коэффициента дегрануляции, который представляет отношение относительного количества дегранулировавшихся тканевых базофилов в опыте к таковому в контроле. Кроме того, в сыворотке крови у пациентов

всех групп исследовалось содержание антител к миелину, ассоциированному с гликопротеинами сыворотки (anti-MAG). Применяли набор реактивов фирмы Buhlmann (Швейцария) и иммуноферментный анализатор Stat- Fax -2100 (США). Дополнительно использовался гистохимический метод оценки антител к миелину, обрабатывались гистологические срезы периферического нерва человека исследуемой или заведомо положительной (содержащей антитела к ОБМ) сывороткой с последующим нанесением меченой люминофором антисыворотки и определением уровня свечения срезов в люминесцентном микроскопе типа ЛЮ-МАМ-М с наличием фотометрии [7].

Результаты обработаны статистически с применением непараметрического критерия «U» (Вилкоксона-Манна-Уитни) [7].

#### **Результаты исследований и их обсуждение**

Было установлено, что содержание иммуноглобулинов различных классов у больных с АН мало отличалось от показателей у здоровых доноров. Достоверное повышение среднего по группе содержания IgA до верхних значений физиологической нормы человека (2,9 г/л) и IgE (100,5 МЕ/мл) наблюдалось через месяц в группе пациентов после радиохирургического лечения (табл. 1).

Таблица 1

Содержание иммуноглобулинов различных классов в сыворотке крови у больных с АН при различных методах лечения

Группы обследуемых	n	Содержание иммуноглобулинов			
		IgM, г/л	IgG, г/л	IgA, г/л	IgE, МЕ/мл
Здоровые доноры	15	1,2 (0,8-1,7)	10,5 (6,5-12,4)	1,5 (0,8-2,8)	66,6 (0-100)
Больные АН до лечения	43	1,4 (0,5-1,9)	12,2 (10-15)	1,9 (0,9-2,4)	92,5 (40-110)
Наблюдение (1 месяц)	15	1,3 (0,4-1,6)	11,8 (7-15)	2,0 (0,8-2,4)	77,5 (0-100)
Хирургическое вмешательство	15	1,45 (0,7-1,7)	11,95 (9-12,8)	1,9 (1,2-3,0)	59,5 (12-79)
Лучевое лечение	13	1,55 (0,6-1,7)	14,2 (8-16)	2,9* (2- 3,5)	100,5* (80-160)

Примечание: \* - достоверность различий по отношению к контролю (p<0,05)

Уровень антител к миелину, ассоциированному с гликопротеином (anti-MAG) сыворотки, был повышен до проведения операции и оставался достоверно более высоким через месяц как после хирургического вмешательства, так и после лучевого лечения (рис. 1).

Наиболее значимыми были отличия в содержании в сыворотке крови IgE-антител к ОБМ и антигену Cole (табл. 2). У больных с АН через месяц после хирургического удаления опухоли уровень антител данного класса снижался до нормы к обоим антигенам. У пациентов 1-й группы (наблюдение) и у обследуемых после радиохирургического лечения уровень IgE-антител был более высоким, чем у лиц контрольной группы.

Аналогичные этим данным были результаты, полученные при определении наличия цитофильных антител, по интенсивности свечения среза нерва (рис. 2). Наиболее интенсивное свечение частей нерва по сравнению со стандартизованной заведомо положительной гистохимической окраской выявлено при использовании сыворотки больных с АН до лечения и наименьшее после хирургического лечения.

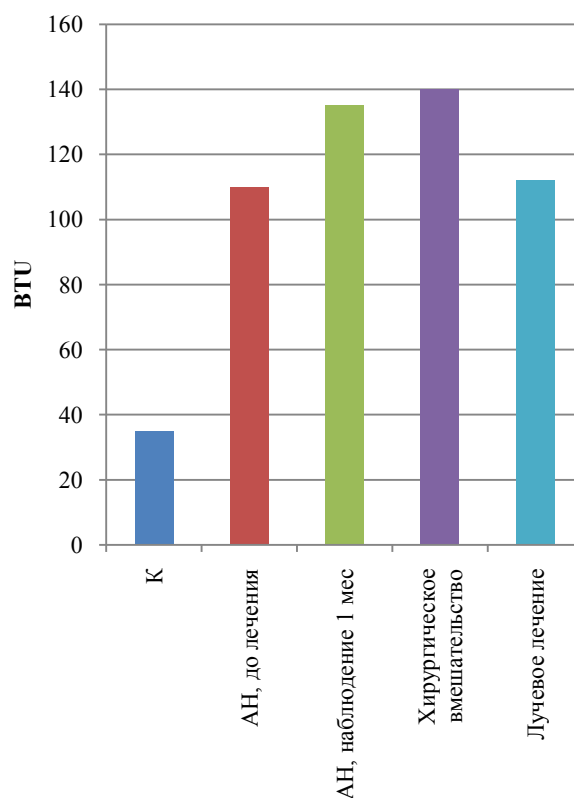


Рис. 1. Содержание anti-MAG в сыворотке крови у больных с АН до и через 1 мес после различных вариантов лечения; К – группа здоровых доноров.

Таблица 2  
Содержание специфических IgE-антител в сыворотке крови у обследованных различных групп через 1 мес после хирургического вмешательства и лучевого лечения

Группы обследуемых	Число наблюдений	Содержание специфических IgE-антител	
		коэффициент дегрануляции	
		тканевые антигены	
		Cole	ОБМ
Контроль	15	1,1 (0,4-1,5)	1,15 (0,6-1,50)
АН, до лечения	43	2,6 (1,5-5,6)*	2,5 (1,7-4,8)*
АН, через 1 мес	15	2,3 (1,6-3,8)*	2,8 (1,8-5,4)*
Хирургическое вмешательство, через 1 мес	15	1,2 (0,5-2,0)	1,45 (1,0-2,2)
Радиохирургическое лечение, через 1 мес	13	1,65 (1,1-2,7)*	2,25 (1,1-3,7)*

Примечание: \* - достоверность различий по отношению к контролю (p<0,05)

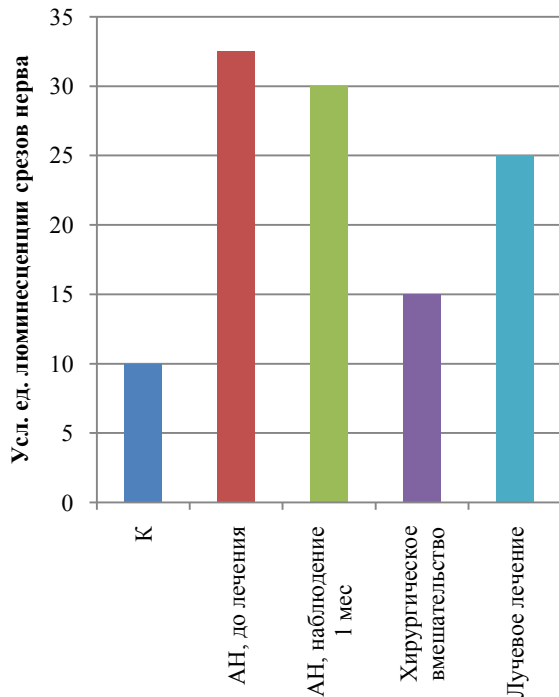


Рис. 2. Содержание цитофильных антител в сыворотке крови у обследуемых различных групп.

Таким образом, проведенные исследования подтверждают данные о том, что при АН повышается уровень IgE-антител к миелину и антигенам белково-полисахаридного комплекса соединительной ткани [8], при этом результаты определения содержания anti-MAG (класс иммуноглобулина М) дополняют исследования в том плане, что у

большинства больных с АН имеют место новые поступления ОБМ. Тот факт, что IgE-антитела к антигену Cole и ОБМ выявляются примерно с одинаковой частотой, свидетельствует о разрушении как соединительнотканной (Шванновские клетки), так и миелиновой оболочки (ОБМ) слухового нерва. Изучение интегрального уровня иммуноглобулинов классов М, G, А и Е в сыворотке крови у пациентов с АН как в диагностическом, так и прогностическом плане малоэффективно, т.к. все отклонения в содержании иммуноглобулинов и классов А и Е находятся в пределах физиологических колебаний. Определение уровня IgE-антител к тканевым антигенам перспективно и в отношении сравнения методов лечения больных с АН – при хирургическом удалении опухоли значительно снижается антигенная нагрузка на систему иммунитета в виде тканевых антигенов слухового нерва, что подтверждается меньшим содержанием IgE-антител в сыворотке крови и менее интенсивной цитофильной люминесцирующей реакцией. Исходя из существующих концепций оценки иммунного статуса в различных группах больных при хирургических манипуляциях [5, 9], можно считать, что такая элиминация АН является прогностически оправданной и более эффективной, чем использование с этой целью радиохимики.

## Література

1. Бережная Н.М., Чехун В.Ф. Система интерлейкинов и рак. – К.: ДИА, 2000. – 224 с.
2. Бережная Н.М., Чехун В.Ф. Иммунология злокачественного роста. – К.: ДИА, 2005. – 524 с.
3. Гублер Е.В. математические методы анализа и распознавания патологических процессов. – Л.: Медицина, 1978. – 294 с.
4. Дюговская Л.А. Экспериментальное исследование механизмов и фармакологической регуляции IgE-антителообразования в органах дыхания: Автореф. дис. докт. мед. наук: 14.00.36/ Киевский медицинский институт. – Киев, 1986. – 31 с.
5. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунная недостаточность. – М.: Медицинская книга, 2003. – 442 с.
6. Лисяний М.І., Скітяк С.А. Динаміка субпопуляційного складу лімфоцитів у хворих з гліомою різного ступеня аплазії // Імунологія та алергологія. – 2002. – № 4. – С. 29-31.
7. Мельников О.Ф., Чашева Е.П., Весова Е.П., Тимофеев А.А., Шматко В.И., Сидоренко Т.В. Гистоиммунофлюоресцентный метод определения цитофильных антител к основному белку миелина // Імунологія та алергологія. – 2003. – №2. – С. 3-10.
8. Мельников О.Ф., Борисенко О.Н., Шамрай Е.О. Иммунологические тесты в диагностике акустической невриномы // Журн. вушних, носових і горлових хвороб. - 2005. - № 2.- С.9-12
9. Никулин Б.А. Оценка и коррекция иммунного статуса. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 375 с.
10. Яковенко В.Д. Экспериментально-клиническое обоснование аллергодиагностики хронического тонзиллита: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Киев, 1985. – 26 с.

## References

1. Berezhnaja NM, Chehun VF. Interleukins system and cancer. Kiev: DIA; 2000. 224 p. Russian.
2. Berezhnaja NM, Chehun VF. Immunology of malignant growth. Kiev: DIA, 2005. 524 s. Russian.
3. Gubler EV. Mathematical methods of analysis and recognition of pathological processes. Lviv: Medicina; 1978. 294 p. Russian.
4. Djugovskaja LA. Experimental study of the mechanisms and pharmacological regulation of IgE-antibody in the respiratory organs [dissertation]. Kiev: Kievskij medicinskij institut; 1986. 31 p. Russian.
5. Lebedev KA, Ponjakina ID. Immune deficiency. Moscow: Medicinskaja kniga; 2003. 442 p. Russian.
6. Lysjanyj MI, Skitjak SA. Dynamics of subpopulation composition of lymphocytes in patients with varying degrees of glioma aplasia. Immunologija ta alergologija. 2002;(4):29-31. Ukrainian.
7. Mel'nikov OF, Chashhevaja EP, Vesova EP, Timofeev AA, Shmatko VI, Sidorenko TV. Histoimmunofluorescent method for determining cytophilic antibodies to myelin basic protein. Immunologija ta alergologija. 2003;(2):3-10. Russian.
8. Mel'nikov OF, Borisenko ON, Shamraj EO. Immunological tests in the diagnosis of acoustic neuroma. Zhurn. vushnyh, nosovyh i gorlovyh khvorob. 2005;(2):9-12. Russian.
9. Nikulin BA. Evaluation and correction of immune status. Moscow: GeOTAR-Media; 2008. 375 p. Russian.
10. Jakovenko VD. Experimental and clinical substantiation allergodiagnostic chronic tonsillitis [dissertation]. Kiev; 1985. 26 p. Russian.

Поступила в редакцию 06.11.13.

© О.Ф.Мельников, О.Н. Борисенко, А.Ю.Минина, 2013

### ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РІВНІВ ІМУНОГЛОБУЛІНІВ ТА АНТИТІЛ ДО ТКАНЕВИХ АНТИГЕНІВ ПЕРИФЕРИЧНИХ НЕРВІВ У ХВОРИХ З АКУСТИЧНОЮ НЕВРИНОМОЮ ПРИ РІЗНИХ МЕТОДАХ ЛІКУВАННЯ

*Мельников О.Ф., Борисенко О.М., Минина Г.Ю. (Київ)*

#### *Резюме*

Досліджувався вміст реакінових і цитофільних антитіл до тканевих антигенів слухового нерва – сполучнотканинного (Cole) та основного білку мієліна (ОБМ) в сироватці крові у хворих з акустичною невриномою до і через 1 місяць після обсервації хірургічного втручання та променевого лікування, а також у практично здорових донорів. Додатково визначались рівні імуноглобулінів класів М, G, E, вміст антитіл до мієліна, асоційованого з глікопротеїнами плазми (anti-MAG). Виявлено підвищення вмісту антитіл до ОБМ, антигену Cole та в системі anti-MAG. Нормалізація рівня антитіл до тканевих антигенів нерва спостерігалась через 1 місяць тільки в групі хворих з АН після хірургічного видалення пухлини.

**Ключові слова:** акустична невринома, лікування, тканеві антигени.

### COMPARISON OF LEVELS OF IMMUNOGLOBULINS AND ANTIBODIES TO ANTIGENS FABRIC PERIPHERAL NERVES IN THESE PATIENTS WITH ACOUSTIC NEUROMAS WITH DIFFERENT METHODS OF TREATMENT

*Melnikov O.F., Borissenko O.N., Minina A.Yu. (Kiev)*

#### *Summary*

*State institution «O.S. Kolomiychenko Institute of Otolaryngology  
of National Academy of Medical Sciences of Ukraine»  
e-mail: amtc@kndio.kiev.ua*

**Actuality:** The specific markers characteristic and specific immune response against the tumor antigen are used for the early diagnosis of neoplasms. This method is used for detection of the study the tumors of the gastrointestinal tract, brain, genitourinary system. Revealed some influence primary and recurrent acoustic neuroma on the reaction of the immune system. This study has examined changes in the reactions of the immune system in patients with acoustic neuroma after surgery, radiosurgery and during the period of observation ("scan and wait").

**Research aim:** To explore some humoral immunity in patients with primary and recurrent acoustic neuroma before and after treatment and observation.

**Materials and methods.** We have observed 43 patients with acoustic neuroma at different ages. Depending on the nature of the treatment, all patients were divided into three groups. The control group was consisted of practically healthy donors. We have determined the content of the immunoglobulins class M, G, A, E in blood serum. Also the content of the class of antibodies to the antigen E of connective tissue and myelin basic protein.

**Results and discussion.** In a survey, we have found that the content of different classes of immunoglobulins in patients with acoustic neuroma was differed little from that of healthy donors. In patients after surgical total resection of the tumor the levels of IgE antibodies to tissue antigens of peripheral nerves was decreased to normal. When there were used the standard stereotaxic radiosurgery IgE-antibodies to the connective tissue and the myelin basic protein was a temple, than in those of control group. When using the method of observation the level of IgE-antibodies was remained quite high.

Based on the assessment of the immune status in different groups of patients, the surgical total removal of acoustic neuroma we have showed a reduction in antigen load on the immune system in the form of tissue antigens of the vestibulocochlearis nerve.

**Key words:** acoustic neuroma, treatment, tissue antigens.