

*В.Л. Матлан
Н.А. Володько
В.А. Барилка
В.А. Піддубняк
О.Й. Даниш
О.А. Петрончак
В.О. Логінський
Я.І. Виговська
Б.Т. Білинський*

Львівський НДІ патології крові та трансфузійної медицини МОЗ України, Львів, Україна

Львівський державний медичний університет ім. Данила Галицького, Львів, Україна

Ключові слова: фактор некрозу пухлин, лімфопроліферативні захворювання, негоджкінські лімфоми, хвороба Годжкіна.

ПРОДУКЦІЯ ФАКТОРА НЕКРОЗУ ПУХЛИН ПРИ ЛІМФОПРОЛІФЕРАТИВНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ: ВЗАЄМОДІЯ ПУХЛИНИ ТА ОРГАНІЗМУ

Резюме. У 107 пацієнтів зі злоякісними лімфопроліферативними захворюваннями (ЛПЗ) досліджували вміст фактора некрозу пухлин (ФНП) у плазмі крові та в середовищі інкубації мононуклеарних клітин периферичної крові, видалених лімфатичних вузлів та селезінки. Концентрацію ФНП у дослідних зразках визначали біохімічним методом. Як мішень використовували клітини лінії L929. Рівень ФНП як у плазмі крові, так і в середовищі інкубації мононуклеарних клітин периферичної крові був помітно вищим у пацієнтів з лейкемічними формами ЛПЗ порівняно з негоджкінськими лімфомами (НГЛ) та хворобою Годжкіна. Концентрація ФНП була найвищою в середовищах інкубації клітин ураженої лімфою селезінки та лімфатичних вузлів у хворих з НГЛ високого ступеня злоякісності. При НГЛ низького ступеня злоякісності виявлено найнижчі рівні цитокіну в супернатантах культур клітин як з лімфатичних вузлів, так і з периферичної крові. Висловлено припущення про зв'язок між продукцією ФНП та особливостями клінічного перебігу ЛПЗ.

ВСТУП

Одним із можливих природних механізмів взаємодії пухлини та організму є продукція різних цитокінів [1–5], які можуть сприяти росту пухлини чи, навпаки, перешкоджати. Підвищена активність тих чи інших цитокінів, вміст їхніх розчинених рецепторів у кровотоку хворих залежно від джерела їх продукції можуть впливати на клінічну маніфестацію пухлинного процесу та його ускладнень, спричиняти збільшення маси пухлинних клітин та кількості патологічних уражень в організмі, розвиток медикаментозної резистентності.

Одним з найважливіших цитокінів при взаємодії злоякісно трансформованих лімфоїдних клітин з імунною системою організму є фактор некрозу пухлин (ФНП), підвищений рівень якого в крові пацієнтів зі злоякісними лімфопроліферативними захворюваннями (ЛПЗ) вважають здебільшого несприятливою прогностичною ознакою. При хронічній лімфолейкемії (ХЛЛ) виявлено пряму залежність між вмістом ФНП у плазмі крові та стадією захворювання [6–10], а при хворобі Годжкіна — ще й з наявністю системних інтоксикаційних В-симптомів [11, 12]. Існує тісний зв'язок між підвищеною продукцією ФНП та багатьма несприятливими прогностичними факторами перебігу ЛПЗ, зокрема, складовими міжнародного прогностичного індексу (PI) для негоджкінських лімфом (НГЛ) [13–17], ураженням кісткового мозку та наявністю анемії [18, 19]. К. Warzocha та співавтори [20] підкреслюють значущість генетичного контролю імунної відповіді

при ЛПЗ, вказуючи на роль поліморфізму генів щодо підвищеної секреції ФНП та впливу на клінічний перебіг НГЛ. Ці дослідники пропонують доповнити PI ще одним прогностичним критерієм — вмістом ФНП та обох його розчинених рецепторів [17]. Рівень останніх в плазмі крові впливає на прогноз і інших ЛПЗ, зокрема, ХЛЛ і волосатоклітинної лейкемії [10, 21, 22]. У той же час існує дуже мало публікацій, де вирізняють продукцію ФНП безпосередньо пухлиною із загальної кількості цього цитокіну в організмі [1, 5, 16].

Мета дослідження — оцінка рівня продукції ФНП у пацієнтів з різними ЛПЗ залежно від стадії, морфогістологічного варіанта захворювання та агресивності його перебігу з відповідним ступенем злоякісності стосовно НГЛ, а також порівняння секреції ФНП пухлинними та імунокомпетентними клітинами.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Проведено дослідження продукції ФНП у 107 пацієнтів з ЛПЗ, серед яких було 40 — з ХЛЛ, 15 — з гострою лімфобластною лейкемією (ГЛЛ), 36 — з НГЛ та 16 — з хворобою Годжкіна. Серед хворих з ХЛЛ у 20 було встановлено ранню (I–II за Rai), у 20 — пізню (III–IV за Rai) стадію захворювання. Серед хворих з НГЛ морфогістологічний умовно низький ступінь злоякісності процесу (Low Grade) констатовано в 11, проміжний (Intermediate Grade) — у 10, високий (High Grade) — у 8 (згідно з Working Formulation для клінічного використання). Серед морфогістологічних варіантів хвороби Годж-

кіна переважав змішаноклітинний (у 8 хворих) та нодулярний склероз (у 5 хворих), у 2 пацієнтів було визначено варіант лімфоїдного переважання та ще в одного — лімфоїдного виснаження. Системні В-симптоми були на початку захворювання у 7 з 16 пацієнтів з хворобою Годжкіна.

Концентрацію ФНП у плазмі крові визначали у 51 пацієнта з ЛПЗ, його продукцію лімфоїдними клітинами досліджували у 99 хворих. Контрольну групу склали 15 донорів віком від 21 до 39 років (визначення концентрації ФНП у плазмі крові та його продукції мононуклеарними клітинами периферичної крові — МКПК) та 7 хворих з неспецифічними реактивними лімфаденітами (визначення продукції ФНП клітинами лімфатичних вузлів).

Порівняння вмісту ФНП у плазмі крові та в супернатанті середовища інкубації клітин лейкоцитного клону проведено у 18 хворих з ХЛЛ та у 7 — з ГЛЛ. У 19 хворих з НГЛ та у 7 пацієнтів з хворобою Годжкіна порівнювали продукцію ФНП мононуклеарами з тканини видалених пухлинних лімфатичних вузлів і периферичної крові та його загальний вміст у плазмі крові.

Предметом дослідження була плазма крові та супернатанти, отримані шляхом 24-годинної інкубації в середовищі RPMI-1640 мононуклеарних клітин, видалених із периферичної крові, лімфатичних вузлів та селезінки. Плазму периферичної крові у пацієнтів з ЛПЗ отримували до початку цитостатичної терапії шляхом венепункції. Для дослідження брали 3 мл гепаринізованої плазми, яку зберігали при температурі -30°C .

Тканину видаленого лімфатичного вузла або селезінки (розміром 2×2 см) вміщували в стерильний фосфатно-сольовий буфер (ФСБ) з рН 7,2 (за прописом Дюльбеко). Деагрегацію тканини проводили в стерильних умовах за стандартною методикою. Отриману суспензію лімфоцитів нашаровували на градієнт щільності верографін-фіколу ($p = 1,077$) з наступним центрифугуванням (клітин з лімфатичного вузла — 5 хв при 1000 об/хв, клітин із селезінки — 20 хв при 1500 об/хв). МКПК також одержували центрифугуванням на градієнті щільності верографін-фіколу ($p = 1,077$) протягом 20 хв при 1500 об/хв. Зібрані лімфоцити ресуспендували у 5–7 мл ФСБ, двічі промивали ФСБ, після чого клітинний осад ресуспендували у 3–4 мл середовища RPMI-1640 («Sigma», США), яке містило 100 мкг/мл гентаміцину сульфату, 25 ммоль/л HEPES («Sigma», США), рН 7,2. Життєздатність клітин підраховували в присутності 0,1% водного розчину трипанового синього. Для роботи використовували клітини, життєздатність яких перевищувала 80%.

Клітини в концентрації $5 \cdot 10^5$ /мл висівали у пластикову культуральну чашку діаметром 6 см («Costar», Німеччина) та інкубували в середовищі RPMI-1640 в атмосфері CO_2 при температурі 37°C протягом 24 год. Після закінчення інкубації кондиціоновані середовища центрифугували протягом

7 хв при 1000 об/хв. Надосадову рідину і плазму зберігали при температурі -30°C .

Визначення концентрації ФНП проводили за допомогою біологічного методу з використанням чутливої до дії ФНП культури клітин L929. У досліді використовували клітини на 3-й день після пасажування, мічені за стандартною методикою H^3 -метилтимідином («Amersham», Великобританія). Клітини трипсинізували, збирали у силіконовані пробірки і центрифугували протягом 7 хв при 1000 об/хв. Клітинний осад ресуспендували в середовищі RPMI-1640, що містило 10% ТЕС, 2 мкг/мл актиноміцину D, 25 ммоль/л HEPES, 50 мкг/мл гентаміцину сульфату (рН 7,2). Концентрація живих клітин становила $8 \cdot 10^5$ /мл середовища. Пробірки з клітинами інкубували протягом 1 год при температурі 37°C , після чого клітинну суспензію по 100 мкл вносили в 96-лунковий планшет («Costar», Німеччина). До кожної лунки додавали по 150 мкл зразків плазми або кондиціонованого середовища, дослідження проводили в триплетах. Для оцінки спонтанного виходу радіоактивної мітки в окремі лунки додавали повне середовище RPMI-1640; тотальний лізис клітин здійснювали лізуючим розчином (рН 7,4). Цитотоксичну дію ФНП на клітини L929 оцінювали через 24 год радіометричним методом, використовуючи прилад БЕТА-2 і сцинтиляційну рідину ЖС-8 (Харківський завод хіміктивів). Для визначення концентрації ФНП користувалися калібрувальною кривою, побудованою за результатами титрування на клітинах L929 рекомбінантного ФНП людини («Sigma», США, $\text{LD}_{50} = 0,067$ нг/мл).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Дослідження вмісту ФНП у плазмі периферичної крові проведено у 51 пацієнта з ЛПЗ (табл. 1). Встановлено, що у всіх цих хворих рівень ФНП у плазмі крові був вірогідно вищим, ніж у здорових осіб, особливо — при ХЛЛ ($1,208 \pm 0,160$ нг/мл). Суттєвої відмінності рівня ФНП на різних стадіях ХЛЛ та при різних умовних ступенях злоякісності НГЛ не було виявлено, хоча можна відзначити більш високі концентрації цитокіну на ранніх стадіях у хворих з ХЛЛ ($1,303 \pm 0,215$ нг/мл) та при низькому ступені злоякісності НГЛ ($1,092 \pm 0,410$ нг/мл).

Таблиця 1

Вміст ФНП у плазмі крові пацієнтів з ЛПЗ

Форма захворювання	ФНП, нг/мл	Достовірність (порівняно з показником у здорових осіб)
Здорові (n = 15)	$0,086 \pm 0,014$	—
ХЛЛ (n = 18)	$1,208 \pm 0,160$	$p < 0,001$
I–II стадія	$1,303 \pm 0,215$	$p < 0,001$
III–IV стадія	$1,146 \pm 0,290$	$p < 0,01$
НГЛ (n = 25)	$1,036 \pm 0,189$	$p < 0,001$
Low Grade	$1,092 \pm 0,410$	$p < 0,05$
Intermediate, High Grade	$0,951 \pm 0,288$	$p < 0,01$
Хвороба Годжкіна (n = 8)	$0,981 \pm 0,237$	$p < 0,01$

Дослідження концентрації ФНП у супернатанті середовища інкубації МКПК проведено у 79 пацієнтів з ЛПЗ (табл. 2). Найвищим вміст ФНП був у супернатантах клітин від хворих з ГЛЛ ($0,158 \pm$

Таблиця 2

Продукція ФНП мононуклеарними клітинами периферичної крові пацієнтів з ЛПЗ

Форма захворювання	ФНП, нг/мл	Достовірність (порівняно з показником у здорових осіб)
Здорові (n = 14)	0,069 ± 0,001	—
ГЛЛ (n = 13)	0,158 ± 0,027	p < 0,01
ХЛЛ (n = 40)	0,100 ± 0,015	p < 0,05
I–II стадія	0,110 ± 0,022	p > 0,05
III–IV стадія	0,099 ± 0,031	p > 0,05
НГЛ (n = 20)	0,087 ± 0,011	p > 0,05
Low Grade	0,048 ± 0,007	p < 0,01
Intermediate Grade	0,069 ± 0,021	p > 0,05
High Grade	0,143 ± 0,054	p > 0,05
Хвороба Годжкіна (n = 6)	0,057 ± 0,010	p > 0,05

0,027) нг/мл (p < 0,01), найнижчим — на хворобу Годжкіна та з НГЛ низького ступеня злоякісності (0,057 ± 0,010 та 0,048 ± 0,006 нг/мл відповідно). В останньому випадку зниження концентрації цитокіну було статистично достовірним (p < 0,01). Продукція ФНП клітинами пухлинного клону на ранніх та пізніх стадіях ХЛЛ суттєво не відрізнялась. Як і при ГЛЛ, вміст ФНП у середовищі інкубації МКПК від хворих на ХЛЛ був суттєво вищим, ніж від здорових осіб.

Визначення вмісту ФНП у середовищі інкубації клітин з видалених лімфатичних вузлів і селезінки проведено у 46 пацієнтів з ЛПЗ (табл. 3), в тому числі — у 16 з хворобою Годжкіна та у 30 з НГЛ (у 7 з яких було проведено спленектомію з приводу пухлинного ураження переважно селезінки). Отримані результати порівнювали з показниками при неспецифічних реактивних лімфаденітах (7 пацієнтів). Найбільш значною концентрація ФНП була в середовищі інкубації клітин із селезінки (0,116 ± 0,036 нг/мл) та лімфатичних вузлів (0,114 ± 0,036 нг/мл) при НГЛ високого ступеня злоякісності, а також при хворобі Годжкіна (0,092 ± 0,016 нг/мл). В останніх двох випадках відмінність була статистично достовірною (p < 0,01 і p < 0,05 відповідно) у порівнянні з такими показниками при реактивних неспецифічних лімфаденітах. Серед хворих з НГЛ концентрація ФНП у середовищі інкубації клітин з лімфатичних вузлів при високому ступені злоякісності була статистично достовірно вищою (p < 0,05), ніж при низькому, тоді як показники ФНП при НГЛ проміжного ступеня злоякісності мали відповідно проміжне значення.

Таблиця 3

Продукція ФНП клітинами лімфатичних вузлів та селезінки пацієнтів з ЛПЗ

Форма захворювання	ФНП, нг/мл	Достовірність (порівняно з показником при лімфаденіті)
Лімфаденіт (n = 7)	0,047 ± 0,012	—
НГЛ* (n = 7)	0,116 ± 0,036	p > 0,05
НГЛ (n = 23)	0,070 ± 0,012	p > 0,05
Low Grade	0,030 ± 0,011	p > 0,05
Intermediate Grade	0,074 ± 0,021	p > 0,05
High Grade	0,114 ± 0,014	p < 0,01
Хвороба Годжкіна (n = 16)	0,092 ± 0,016	p < 0,05

* Переважне ураження селезінки, спленектомія.

З метою порівняльної оцінки питомої частки продукції ФНП клітинами пухлинного субстрату та імункомпетентними клітинами самого організму

в ракурсі взаємовідносин пухлина — організм визначали відношення показників концентрації ФНП у середовищі інкубації МКПК до його загального вмісту в плазмі у пацієнтів з ЛПЗ (табл. 4). Найвищим співвідношення концентрацій ФНП у середовищі інкубації клітин та в плазмі крові було у здорових осіб — 0,633 ± 0,056. Співвідношення продукції цитокіну лейкемічними клітинами з його рівнем у плазмі крові при ХЛЛ — 0,264 ± 0,074 (p < 0,001), хоча відмінність показників при різних стадіях захворювання була несуттєвою. Нижчим співвідношення було при НГЛ різного ступеня злоякісності і особливо при хворобі Годжкіна (p < 0,001 в обох випадках). Крім того, при хворобі Годжкіна вказане співвідношення виявилось статистично достовірно нижчим, ніж у хворих з НГЛ (p < 0,01).

Таблиця 4

Співвідношення продукції ФНП мононуклеарами периферичної крові з його вмістом у плазмі у пацієнтів з ЛПЗ

Форма захворювання	ФНП у супернатанті (нг/мл) / ФНП у плазмі крові (нг/мл)	Достовірність (порівняно з показником у здорових осіб)
Здорові (n = 10)	0,633 ± 0,056	—
ХЛЛ (n = 18)	0,264 ± 0,074	p < 0,001
I–II стадія	0,255 ± 0,105	p < 0,01
III–IV стадія	0,326 ± 0,074	p < 0,01
НГЛ (n = 19)	0,134 ± 0,022	p < 0,001
Low Grade	0,128 ± 0,047	p < 0,001
Intermediate, High Grade	0,138 ± 0,021	p < 0,001
Хвороба Годжкіна (n = 6)	0,061 ± 0,011	p < 0,001

При визначенні співвідношення концентрації ФНП у середовищі інкубації клітин з лімфатичних вузлів та у плазмі крові хворих з лімфомами достовірних відмінностей не виявлено, що можна пояснити недостатньою кількістю обстежень (10 хворих з НГЛ та 8 — з хворобою Годжкіна). Зокрема, у хворих з НГЛ низького ступеня злоякісності та при хворобі Годжкіна відповідні показники практично не відрізнялись у порівнянні з такими при неспецифічному реактивному лімфаденіті. При НГЛ проміжного та високого ступеня злоякісності концентрація ФНП по відношенню до вмісту в плазмі крові була дещо вищою. З іншого боку, на відміну від хвороби Годжкіна, при НГЛ рівень ФНП у середовищі інкубації МКПК по відношенню до концентрації в плазмі крові виявився статистично достовірно вищим (p < 0,05), ніж у середовищі інкубації клітин з лімфатичних вузлів по відношенню до вмісту в плазмі крові (0,134 ± 0,022 і 0,068 ± 0,011 нг/мл відповідно).

Проведені дослідження засвідчили, що рівень ФНП у плазмі крові пацієнтів з різними ЛПЗ значно вищий, ніж у здорових осіб. Отримані дані узгоджуються з висновками переважної більшості інших дослідників, які пов'язують підвищений вміст цього цитокіну в циркуляції з розвитком пухлинного процесу [19–24]. З іншого боку, МКПК у хворих з НГЛ низького ступеня злоякісності або з хворобою Годжкіна були менш активними щодо продукції ФНП, ніж у здорових осіб. Останнє може бути непрямим доказом того, що підвищений вміст цього цитокіну в плазмі крові переважно пухлинного походження

[5, 24]. Підвищену продукцію ФНП лімфоцитами периферичної крові хворих з нелейкемізованими НГЛ високого ступеня злоякисності можна пояснити як ознаку тимчасової активації протипухлинного імунітету у відповідь на високоагресивний перебіг захворювання, хоча кількість обстежень та об'єм досліджень є недостатніми для остаточного висновку. На відміну від лімфом, продукція ФНП мононуклеарами периферичної крові у пацієнтів з лейкемічними формами ЛПЗ — ХЛЛ та ГЛЛ — була достовірно вищою, ніж у здорових осіб [20, 22]. У цих хворих відзначені найвищі показники співвідношення концентрації цитокіну в середовищі інкубації клітин з периферичної крові до його вмісту в плазмі крові. Отримані результати можна пояснити тим, що, на відміну від лімфом, циркулююча популяція мононуклеарів при ГЛЛ та ХЛЛ представлена в основному лейкемічними клітинами — більш активними продуцентами ФНП у порівнянні з лімфоцитами периферичної крові у пацієнтів з НГЛ та хворобою Годжкіна. Вища концентрація цитокіну в середовищі інкубації клітин хворих з ГЛЛ у порівнянні з ХЛЛ може вказувати на зв'язок ФНП з рівнем проліферації клітин пухлинного клону [20, 22]. Дещо вищі показники вмісту ФНП у плазмі крові та в середовищі інкубації МКПК на більш ранніх стадіях ХЛЛ до певної міри є подібними до результатів, отриманих іншими дослідниками [6, 26]. Слід відзначити, що вказані відмінності між стадіями є, ймовірно, відображенням наростаючого дисбалансу регуляторних процесів, у яких беруть участь певні цитокіни, зокрема ФНП.

Проведені дослідження вмісту ФНП у середовищі інкубації мононуклеарних клітин з видалених лімфатичних вузлів у хворих з НГЛ виявили його прямий зв'язок з агресивністю лімфом, що також може вказувати на безпосередню участь цього цитокіну в процесах лімфопроліферації. Про це свідчить достовірне збільшення продукції ФНП у середовищі інкубації клітин з лімфатичних вузлів у хворих з НГЛ високого ступеня злоякисності, а також значно вище співвідношення концентрації цитокіну в цьому середовищі та в плазмі хворих з агресивними НГЛ. Отримані дані до певної міри узгоджуються з результатами інших дослідників, які виявляли кореляцію між пухлинною продукцією цього цитокіну та іншими несприятливими прогностичними чинниками перебігу НГЛ, окрім умовного ступеня злоякисності згідно з морфологічним варіантом захворювання [19, 21, 23, 25].

Високий вміст ФНП у середовищі інкубації лімфоїдних клітин з тканини селезінки, ураженої НГЛ переважно низького ступеня злоякисності, може свідчити про особливу роль цього цитокіну в розвитку лімфом селезінки. Достовірне підвищення концентрації ФНП у середовищі інкубації мононуклеарних клітин з лімфатичних вузлів при хворобі Годжкіна у порівнянні з такою при неспецифічному реактивному лімфаденіті може вказувати на його активну роль при цьому захворюванні [11, 26–28],

однак визначити джерело походження ФНП — клітини Березовського—Штернберга чи оточуючі їх лімфоцити — за допомогою доступних методів дослідження було неможливим. Отже, отримані результати засвідчують участь ФНП у процесах злоякисної лімфопроліферації, зв'язок вмісту цього цитокіну зі ступенем злоякисності ЛПЗ, рівнем їхньої проліферативної активності та агресивністю перебігу. Шляхом порівняння вмісту ФНП у плазмі крові та в середовищі інкубації мононуклеарних клітин із різних джерел походження отримано дані, які підтверджують, що основними продуцентами цього цитокіну при ЛПЗ є клітини пухлинного клону. Встановлено, що лімфоїдні клітини ураженої лімфою селезінки більш активно продукують ФНП, ніж лімфатичні вузли при інших НГЛ. Отримано докази участі цього цитокіну в процесах пухлинної проліферації при хворобі Годжкіна.

ЛІТЕРАТУРА

1. **Abrahamsson J, Carlsson B, Mellander L.** Tumor necrosis factor-alpha in malignant disease. *Am J Pediatr Haematol Oncol* 1993; **15**: 364–9.
2. **Hsu SM, Waldron JW, Hsu PL, Hough AJ.** Cytokines in malignant lymphomas: review and prospective evaluation. *Hum Pathol* 1993; **24**: 1040–57.
3. **Takeshita M, Sumiyoshi Y, Masuda Y, et al.** Cytokine (interleukin-1 alpha, interleukin-1 beta, tumor necrosis factor alpha and interleukin-6) — possessing cells on lymph nodes of malignant lymphoma. *Pathol Res Pract* 1993; **189**: 18–25.
4. **Yamamoto N, Zon JP, Li YF, et al.** Regulatory mechanisms for production of IFN-gamma and TNF by antitumor T-cells or macrophages in the tumor-bearing state. *J Immunol* 1995; **5**: 2281–90.
5. **Mantovani G, Maccio A, Esu S, et al.** Levels of IL-4, IL-10 and IFN-g in the serum and in the PBMC culture supernatants from 31 patients with hematological malignancies. *Br J Haematol* 1998; **102**: Abstr P-0462: 118.
6. **Hahn T, Kusminsky G, Bassous L, et al.** Tumour necrosis factor in B chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* 1989; **71**: 299–304.
7. **Barlogie B, Gale RP.** Multiple myeloma and chronic lymphocytic leukemia: parallels and contrasts. *Am J Med* 1992; **93**: 443–50.
8. **Elbaz O, Mahmoud L.** Serum tumour necrosis factor (TNF) levels in patients with chronic leukemias. In: XII Meet Int Soc Haemat, Vienna, 1993; Abstr N439: 111.
9. **Pinilla-Ibarz J, Pizarro A, Codoceo R, et al.** Levels of IL-1, IL-6, a-TNF in patients with chronic B lymphocytic leukemia (B-CLL) at different stages of disease progression. In: XII Meet Int Soc Haemat, Vienna, 1993; Abstr N617: 155.
10. **Blasinska-Morawiec M, Robak T, Blonski JZ, et al.** Pretreatment serum levels of tumor necrosis factor alpha (TNF- α), interleukin-2 (IL-2), interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10) and their soluble receptors in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL). In: XIV Meet Int Soc Haemat, Stockholm, 1997; Abstr N211: 112.
11. **Benharroch D, Prinsloo I, Apte RN, et al.** Interleukin-1 and tumor necrosis factor-alpha in the Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease. Correlation with clinical and morphological «inflammatory» features. *Eur Cytokine Network* 1996; **7**: 51–7.
12. **Unal E, Cavdar A, Gozdasoglu S, et al.** Serum levels of cytokines in children with Hodgkin's disease. *Ann Oncol* 1996; **7** (Suppl 3): Abstr N372: 102.
13. **Lopez-Guillermo A, Filella X, Bosch F, et al.** Interleukin 6 (IL6) in non-Hodgkin's lymphoma (NHL): analysis of serum levels at different phases of disease. *Ann Oncol* 1996; **7** (Suppl 3): Abstr N329: 91.

14. **Macia J, Gomez X, Esquerda A, et al.** Value of the determination of TNF-alpha in the plasma of patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymph* 1996; **20**: 481–6.

15. **Salles G, Bienvu J, Bastion Y, et al.** Elevated circulating levels of TNF α and its p55 soluble receptor are associated with adverse prognosis in lymphoma patients. *Br J Haematol* 1996; **93**: 352–59.

16. **Voorzanger N, Caux C, Biron P, et al.** Serum IL-10, IL-6, TNF levels in a series of 248 patients with non-Hodgkin's lymphomas (NHL). *Ann Oncol* 1996; **7** (Suppl 3): Abstr N616: 184.

17. **Warzocha K, Salles G, Bienvu J, et al.** Tumor necrosis factor ligand-receptor system can predict treatment outcome in lymphoma patients. *J Clin Oncol* 1997; **15**: 499–508.

18. **Серебряная НБ, Новик АА, Волошин СВ и др.** Иммунофенотипирование мононуклеаров периферической крови у больных злокачественными лимфомами. *Эксперим онкол* 1996; **18**: 387–91.

19. **Moulet I, Salles G, Ketterer N, et al.** Frequency and significance of anemia in non-Hodgkin's lymphoma patients. *Ann Oncol* 1998; **9**: 1109–15.

20. **Warzocha K, Ribeiro P, Bienvu J, et al.** Inherited susceptibility for increase TNF production impairs lymphoma patients outcome. *Br J Haematol* 1998; **102**(1); Abstr O-0567: 144.

21. **Blasinska-Morawiec M, Blonski JZ, Robak T.** Correlation of several cytokines and their soluble receptors with clinical, hematological and immunological parameters in untreated patients with B-cell lymphocytic leukemia. *Br J Haematol* 1998; **102**(1); Abstr P-0501: 128.

22. **Digel W, Porzolt F, Schmidt M, et al.** High levels of circulating soluble receptors for tumor cell leukemia and type B chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Invest* 1992; **89**: 1684–90.

23. **Reittie JE, Yong KL, Panayiotidis P, Hoffbrand AV.** Interleukin-6 inhibits apoptosis and tumor necrosis factor induced proliferation of B-chronic lymphocytic leukaemia. *Leuk Lymph* 1996; **22**: 83–90.

24. **Zinzani PL, Vaccini C, Zaccaria A, et al.** Clinical implications of serum levels of soluble CD23 and tumor necrosis factor alpha in low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Eur J Haematol* 1996; **57**: 335–40.

25. **Jewell AP, Worman CP, Giles FJ, Goldstone AH.** Serum levels of TNF, IL-6 and sCD23 correlate with changes in lymphocyte count in patients with B-cell chronic lymphocytic leukaemia receiving interferon-alpha therapy. *Leuk Lymph* 1997; **24**: 327–33.

26. **Серебряная НБ, Жибурт ЕБ, Новик АА и др.** Связь инфекции вирусом Эпштейна—Барр с HLA-фенотипом и особенностями цитокинового статуса у больных со злокачественными неходжкинскими лимфомами. *Вопр вирусологии* 1998; **43**: 79–82.

27. **Gruss HJ, Duyster J, Herrmann F.** Structural and biological features of the TNF receptor and TNF ligand superfamilies:

interactive signals in the pathobiology of Hodgkin's disease. *Ann Oncol* 1996; **7** (Suppl 4): 19–26.

28. **Clodi K, Younes A.** Reed–Sternberg cells and the TNF family of receptors/ligands. *Leuk Lymph* 1997; **27**: 195–205.

PRODUCTION OF TUMOR NECROSIS FACTOR IN LYMPHOPROLIFERATIVE DISORDERS: TUMOR-HOST INTERACTION

V.L. Matlan, N.A. Volodko, V.A. Barylka, V.A. Piddubniak, O.Y. Danysh, O.A. Petronchak, V.O. Loginsky, Ya.I. Vygovska, B.T. Bilynsky

Summary. *Tumor necrosis factor may appreciably influence tumor-host relationships in different lymphoproliferative disorders (LPD). From this standpoint, we performed a comparative investigation of the TNF plasma level with its content in supernatants of mononuclear cells from peripheral blood, lymph nodes, and spleen of 107 patients with LPD. These studies were fulfilled by a biological method using a murine fibroblast cell line, L929, as target cells. The TNF contents in plasma and supernatants of mononuclears from peripheral blood were significantly higher in lymphoid leukaemias in comparison with non-Hodgkin's lymphomas (NHL) and Hodgkin's disease. TNF production by neoplastic lymphoid tissues was notably higher in cells' supernatants from neoplastic spleen and high-grade lymphomas. A considerably higher ratio was revealed between TNF production in lymph nodes and its plasma level in aggressive lymphomas relative to other ones. The lowest TNF activity was detected in low-grade NHL in cells' supernatants from both lymph nodes and peripheral blood mononuclears. The data obtained testifies to some association between the TNF production and the clinical course of certain LPD.*

Key Words: tumor necrosis factor, lymphoproliferative disorders, non-Hodgkin's lymphomas, Hodgkin's disease.