

ХИСТОХЕМИЈСКА ЛОКАЛИЗАЦИЈА И АКТИВНОСТ DPP IV У АНТИГЕН СТИМУЛИСАНОЈ ТОНЗИЛИ

Савић С.¹, Аврамовић В.², Влаховић В.³

¹Институт за хистологију и ембриологију, Медицински факултет - Приштина, Косовска Митровица

²Институт за хистологију и ембриологију, Медицински факултет - Ниш

³Институт за нефрологију и хемодијализу, Клинички центар - Ниш

HISTOCHEMICAL LOCALISATION AND ACTIVITY OF DPP IV IN ANTIGEN STIMULATED TONSILLA

Савић С.¹, Аврамовић В.², Влаховић В.³

¹Institute of Histology and Embryology, Medical faculty - Priština, Kosovska Mitrovica

²Institute of Histology and Embryology, Medical faculty - Niš

³Institute of Nephrology and Hemodialysis, Clinical center - Niš

SUMMARY

Dipeptidyl peptidase IV is ecto-enzyme which is present on the cell surface of large number of cells and particularly of T-lymphocytes. It takes part in immune reactions and regulation of immune response, while antigen stimulation of cells increases percentage of expression of DPP IV on their cell surfaces. Since the immune response is different for chronic tonsillar disease of tonsilla palatine, idiopathic tonsillar hyperplasia ITH and recurrent tonsillitis RT, and considering the fact that DPP IV takes part in activation of T and B-lymphocytes stimulated by antigen, we presume that different activities of DPP IV exist in tonsillitis and blood of persons diseased of different types of chronic tonsillitis, ITH and RT. The main goals of research are determination of activities of DPP IV on lymphocytes of tonsillas and serum of persons diseased of ITH and RT as well as histochemical and immunohistochemical determination of DPP IV localisation on lymphocytes of examined tonsillas. Two groups of patients are included: nineteen persons with ITH and thirteen persons with RT, while the control group was contained of thirty nine persons with diagnosis systematic lupus erythematosus (SLE) and fifteen health persons. The research was done on 32 tonsillas created by tonsillectomy of persons with ITH and RT and 86 blood samples of all 86 persons. The results of research show histochemical localisation of enzyme activity of DPP IV in T-dependent zones of tonsilla and it is originating from activated T-lymphocytes. The enzyme activity of DPP IV on tonsillar lymphocytes is higher in case of ITH compared with RT. By this research we conclude that different activity of DPP IV on tonsillar lymphocytes for ITH and RT presumes the difference of immune response of tonsillas during these tonsillar diseases.

Key words: Dipeptidyl peptidase IV (DPP IV); T-lymphocyte; tonsilla palatina; idiopathic tonsillar hyperplasia (ITH); recurrent tonsillitis (RT).

САЖЕТАК

Дипептидил пептидаза IV (DPP IV) је екто-ензим присутан на ћелијској мембрани великог броја ћелија, а нарочито Т-лимфоцита. Учествује у имуним реакцијама и регулацији имуног одговора а антигена стимулација ћелија повећава проценат експресије DPP IV на њиховим мембранама. Како код хроничних запаљенских процеса тонзиле палатине, идиопатске тонзиларне хиперплазије ИТН и рекурентног тонзилитиса РТ постоји разлика у имуном одговору тонзила, а DPP IV учествује у активацији Т- и Б-лимфоцита стимулираних антигеном, предпостављамо да у тонзилама и крви особа оболелих од различитих облика хроничног тонзилитиса, ИТН и РТ, постоји различита активност DPP IV. Циљеви истраживања су одређивање активности DPP IV на лимфоцитима тонзила и серуму пацијената са ИТН и РТ, као и хистохемијско и имунохистохемијско одређивање локализације DPP IV на лимфоцитима испитиваних тонзила. Обухваћене су две групе болесника и то: деветнаесторо испитаника са ИТН и тринаесторо испитаника са РТ, док је контролну групу чинило тридесет девет особа са дијагнозом системског лупус еритематодеса (SLE) и петнаесторо здравих особа. Истраживање је обављено на 32 тонзиле добијене тонзилектомијом особа са ИТН и РТ и 86 узорака крви добијених од свих испитаника. Резултати рада показују хистохемијску локализацију ензимске активности DPP IV у Т-зависним зонама тонзиле, а она потиче од активисаних Т-лимфоцита. Ензимска активност DPP IV на тонзиларним лимфоцитима већа је код РТ него код ИТН, док је активност серумске форме DPP IV већа у ИТН у поређењу са РТ. Овим испитивањем закључујемо да различита активност DPP IV на тонзиларним лимфоцитима код ИТН и РТ предпоставља разлику у имуном одговору тонзила током ових запаљенских процеса.

Кључне речи: Дипептидил пептидаза IV (DPP IV), Т-лимфоцит, Тонзила палатина, Идиопатска тонзиларна хиперплазија (ИТН), Рекурентни тонзилитис (РТ).

УВОД

Тонзила палатина је део Waldeyer-овог прстена и са осталим тонзилама чини прву линију одбране од патогених агенаса, доспелих из ваздуха или путем хране. Као последица антигене стимулације, у тонили палатини се одвија имуни одговор у чију су регулацију укључени бројни локални и системски фактори. Значајно место међу њима се приписује екто-ензимима као што су 5'-нуклеотидаза, Mg²⁺-АТФ-аза, дипептидил пептидаза IV (DPP IV), аминокиселиназа N (APN) и аминокиселиназа А (АРА).

Имуни одговор у палатиналној тонзили може бити измењен у стањима хроничног запаљења. Досадашња истраживања показала су разлику у имуном одговору и морфолошком супстрату тонзиле код различитих облика хроничног тонзилитиса, идиопатске тонзиларне хиперплазије ИТН и рекурентног тонзилитиса RT.

Идиопатска тонзиларна хиперплазија која се јавља код деце узраста 5-7 год. карактерише се увећањем тонзила, хипертрофијом и хиперплазијом лимфних фоликула, редукцијом интерфоликуларног ткива, као и очуваним и задебљаним криптичним епителом. Увећање тонзила је последица сталне антигене стимулације без знакова запаљења (1).

Рекурентни тонзилитис се јавља код старије узраста доби, карактерише се малим и мање бројним лимфним фоликулима, присуством фиброзе у екстрафоликуларном лимфном ткиву и истањеним и измењеним криптичним епителом. И поред ових промена очувана је имунолошка активност у тонзилама (1).

Дипептидил пептидаза IV (ЕС 3.4.14.5, DPP IV; CD26; ТНАМ; Аденозин деаминаза везујући протеин-АДАбр) је атипична серин протеиназа локализована на површини ћелијске мембране, која селективно хидролизује X-Prolin (X-Pro) или X-Alanin (X-Ala) дипептиде на N-терминалном крају полипептидног ланца. DPP IV је члан поподице POP (пролил олигопептидаза) гена. То је тип II интегрални мембрански гликопротеин грађен од две идентичне субјединице од по 110 kDa. Каталитички је активан само у форми димера, релативна молекулска маса димера је 220-264 kDa (2). Свака субјединица димера DPP IV садржи два домена: а) C-терминални α/β хидролазни и б) N-терминални β-пропелерни регион (са осмокрилним β-пропелером) (3). На граници између N-терминалног осмокрилног β-региона (61-495) и C-терминалног α/β хидролазног региона (39-55 и 497-766) налази се активни центар ензима тзв. каталитичка триада S630, H740 и D708.

Код човека је DPP IV кодирана са 26 екзона локализованих на дугом краку хромозома 2, овај ген се налази на хромозому 2q24.2 и садржи 81810 база (4). Нуклеотидна секвенца 3.4 kb људског CD26 кодира протеин од 766 аминокиселина распоређених у три региона (3), (4):

1. Екстрацелуларни регион - (738 аминокиселина) има три дела: проксимални мембрански гликозилсани регион са 9 потенцијалних места гликозилације (у β-пропелерском домену); регион богат цистеином и C-терминални регион коме се приписује каталитичка ак-

тивност.

2. Трансмембрански хидрофобни регион - 22 аминокиселине.

3. Интрацелуларни регион - 6 аминокиселина.

Највећи број испитивања функције и активности CD26 вршен је на Т-лимфоцитима, због његове велике експресије на овим ћелијама. Стимулација Т-ћелија антигенима, анти CD3+IL2 или митогенима као што је фитохемаглутинин (PHA) повећавају експресију овог ензима за 5-10 пута (5), (6). Th1-ћелије показују већу експресију CD26 од Th2-ћелија, што сугерише на могућност IL-12 зависне регулације, јер је доказано да он повећава експресију и ензимску функцију CD26 на PHA стимулираним мононуклеарним ћелијама периферне крви (7).

Б-ћелије показују веома ниску експресију CD 26, али се она повећава стимулацијом покењеад митогеном (PWM) или *Staphylococcus aureus* протеином (8), (9). Приближно 10% CD16⁺ НК ћелија у свеже изолованим РВМС експримира на својој мембрани CD26. Слично Т-ћелијама, експресија се повећава стимулацијом са IL-2 (8), (9).

CD26 може имати и костимулаторне активности које се заснивају на повећању Т-ћелијског одговора на антигене, учествовању у иницијацији трансдукције сигнала, која захтева присуство CD3/TCR (Т-ћелијског рецептора) комплекса на површини ћелијске мембране, повећању секреције цитокина, регулацији активности маркера као што су CD25, CD7 и CDE69, индукцији диференцијације ефекторских ћелија и активности Б ћелија и CTL (цитотосични Т-лимфоцити). Поред овога, CD26 узрокује фосфорилацију тирозин киназа (10). CD26 има улогу и у ефекторској функцији CD 8⁺ Т-лимфоцита; он покреће цитотоксичну активност CTL у присуству Fc рецептора на циљним ћелијама (11). Присуство CD26 на Т-ћелијама праћено је продукцијом имуноглобулина у Б-ћелијама стимулираним са PWM (Рокевуд митоген), што сугерише да CD26 може имати улогу у потенцирању функције Т-хелпер ћелија.

CD26 се још назива и АДА-везујући протеин (ADA bp) зато што везује аденозин деаминазу (ADA). Два хидрофобна места на CD26, Leu 294 и Val 341 и један остатак на ADA (Arg 142) идентификовани су као основа CD26-ADA везе. Ензимска улога ADA заснива се на спречавању инхибиције пролиферације Т-ћелија посредоване аденозином (12). Активација Т-ћелије TJR/CD3 комплексом повећава ћелијску експресију и број молекула CD26 и ADA (13).

DPP IV има и екто-пептидазну активност и многи природни субстрати, као што су хемокини (као CCL 5), неуропептиди, хормони и фактори раста мењају своју активност под утицајем овог ензима. DPP IV има важну улогу у процесу дигестије, контроли нивоа глукозе у крви и продукцији инсулина. Природни субстрати за овај ензим су и глукоза-зависни инсулинотропни пептид (GID) и глукагону сличан протеин (GLP-1 и GLP-2) (3), (14).

DPP IV активност се смањује са годинама и дискретно је нижа код жена него код мушкараца. Обољења везана за активност DPP IV обухватају аутоимуне про-

цесе, малигна обољења, бактеријске и друге инфекције, првенствено инфекцију HIV вирусом, поремећаје исхране, повреде јетре (3).

CD26 се такође везује за компоненте екстрацелуларног матрикса (ЕСМ). Места везивања локализована су у области бета-пропелерског региона, у сегментима 313-319 и 236-491. Претпоставља се да је веза са колагеном индиректна и да се остварује помоћу интегрина.

Поред мембранске, постоји и серумска форма DPP IV, односно CD26 (sCD26). То је гликопротеин молекуларне масе 110 kDa, који за разлику од CD26 не садржи трансмембрански регион, а механизам настанка sCD 26 је, вероватно, протеолитички. Ниво sCD26 у серуму здравих одраслих људи је око 22 nmol p-nitroanilida/min/ml (15) и углавном се смањује код болести, осим у случајевима повреде јетре и екстензивне лимфоцитне пролиферације када је повећан.

CD 26 се експримира у скоро свим органима. Имунохистохемијским методама детектован је у: дигестивном систему, жучним путевима, егзокрином панкреасу, бубрегу, тимусу (превасходо на медуларним тимоцитима), материци, плаценти, простати, епидидимису, надбубрежној и паротидној жлезди, знојним, плувачним и млечним жлездама, као и ендотелним ћелијама капилара свих органа укључујући срце, плућа и мозак (3).

ЦИЉ РАДА

У досадашњим истраживањима показано је да у различитим облицима хроничног тонзилитиса постоје разлике у имуном одговору тонзила, а како DPP IV учествује у активацији Т- и Б- лимфоцита стимулираних антигеном, претпостављамо да у тонзилама и у крви особа оболелих од различитих облика хроничног тонзилитиса, ИТН и RT постоји различита активност DPP IV. У сврху потврђивања ове претпоставке постављени су следећи циљеви истраживања:

- Хистохемијско одређивање локализације DPP IV у тонзилама са ИТН и RT.
- Одређивање активности DPP IV на лимфоцитима тонзила код ИТН и RT.
- Одређивање активности DPP IV у серуму пацијената са ИТН и RT.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

Истраживање је обављено на: Институту за хистологију и ембриологију Медицинског факултета у Нишу, на Клиници за ухо, грло и нос и у Имунолошкој лабораторији Института за нефрологију и хемодијализу Клиничког центра у Нишу. Истраживање је обављено у периоду од децембра 2002. до децембра 2003. године.

Истраживањем су обухваћене две групе болесника са хроничним тонзилитисом:

1. Дечија група: деветнаесторо деце оба пола, просечне старости 7,2 год., са клиничком дијагнозом ИТН и двоје деце оба пола, просечне старости 12,5 год. са клиничком дијагнозом RT.
2. Група одраслих: девет особа оба пола, просечне старости 28,5 год., са клиничком дијагнозом RT.

3. Контролну групу су чиниле:

- тридесет три одрасле особе са клиничком дијагнозом системског лупус еритематодеса (SLE), негативна контрола,

- 15 здравих особа мушког и женског пола, позитивна контрола.

Одабир група болесника са ИТН и RT извршен је у складу са учесталошћу одређених облика тонзилита у зависности од узраста а контролне групе служе за компарацију резултата.

Критеријуми за постављање дијагнозе ИТН и RT били су: историја болести, клиничка слика, лабораторијске анализе (крвна слика, леукоцитарна формула, седиментација) као и хистолошка анализа препарата болених хематоксилин-еозином (HE).

Материјал су чиниле:

- Тонзиле добијене тонзилектомијом особа са ИТН и RT; свака тонзила је подељена на три дела: један део је фиксиран у формалину за патохистолошку анализу, други је замрзаван у течном азоту за хистохемијску анализу, а трећи део је употребљен за издвајање лимфоцита за одређивање ензимске активности.

- Један до три cm³ венске крви особа оболелих од ИТН и RT.

- Пет cm³ крви здравих особа и особа са SLE, за контролу. Узорци крви здравих особа добијени су из Института за трансфузиологију КЦ у Нишу.

Метод испитивања

- Хистохемијска локализација DPP IV у тонзилама са ИТН и RT.

- Изолација лимфоцита из ткива тонзиле.

- Одређивање ензимске активности DPP IV на лимфоцитима тонзила.

- Одвајање серума испитаника.

- Одређивање ензимске активности DPP IV у серуму пацијената са ИТН, RT и SLE. Имунохистохемијска детекција DPP IV.

Статистичка обрада података: методе дескриптивне статистике (средња вредност \bar{x} , стандардна девијација-SD, медијана) и аналитичке статистике.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Истраживање је обављено на 32 тонзиле које су добијене тонзилектомијом особа са хроничним тонзилитом и 86 узорака крви добијених од здравих особа - контролна група, особа са клиничком дијагнозом идиопатске тонзиларне хиперплазије (ИТН), рекурентног тонзилита (RT) и системског лупус еритематодеса (SLE), (табела 1). Патохистолошким анализом потврђена је дијагноза код свих испитиваних тонзила, осим у два случаја ИТН где је патохистолошки налаз одговарао RT.

Старосна структура и поделба по полу

Анализа узрадне структуре испитаника показала је да је просечна старост оболелих са ИТН око 7 година, док су оболели са RT били просечне старости око 24 године (табела 2). Најмлађи испитаник са ИТН имао је 5

година, а најстарији са RT, 58 година. Заступљеност испитаника са ИТН и RT према полу је поједнака 16 испитаника је женског пола и 16 мушког пола (табела 1).

Табела 1. Дисциплинација испитаника по испитиваним групама и полу

Група	М	Ж	Укупно
- Контрола	12	3	15
- ИТН	10	9	19
- RT	6	7	13
- SLE	4	35	39
Укупно	32	54	96

Табела 2. Старосна структура испитаника по испитиваним групама

Група	Просечна старост (г)	Медијана	SE	Min-Max
- Контрола	47.6±8.3	50.0	2.14	(37-62)
- ИТН	7.1±1.7	7.0	0.40	(5-12)
- RT	26.3±12.9	3.74	3.74	(10-58)
- SLE	38.5±13.5	38.0	2.89	(15-67)

Хистохемијска и имунохемијска локализација DPP IV у тонзилама са RT и ИТН

Хистохемијско бојење криостатских исечака тонзиларног ткива показује исту локализацију ензимске активности DPP IV у ИТН и RT. Ова активност је присутна првенствено у интерфоликуларној зони тонзиле, док су герминативни центри обојени. У центру неких лимфних фоликула уочавају се ретке појединачне обојене ћелије (Сл. 1 и 2).

Овакав резултат указује да је активност DPP IV везана за Т-ћелијску популацију која доминира у интерфоликуларним регионима тонзила. Како се јака експресија CD26/DPP IV јавља, пре свега, на активисаним Т-

лимфоцитима (16), (17) можемо сматрати да позитивна реакција на DPP IV у Т-зависним регионима тонзила потиче од активисаних Т-лимфоцита. Присуство активисаних Т-лимфоцита у интерфоликуларним регионима тонзиле потврђује и позитивна реакција на АТР-азу, екто-ензим који се налази на површини Т-лимфоцита и укључен је у њихову активацију и диференцијацију (18).

Ензимска активност DPP IV на лимфоцитима тонзила у ИТН и RT

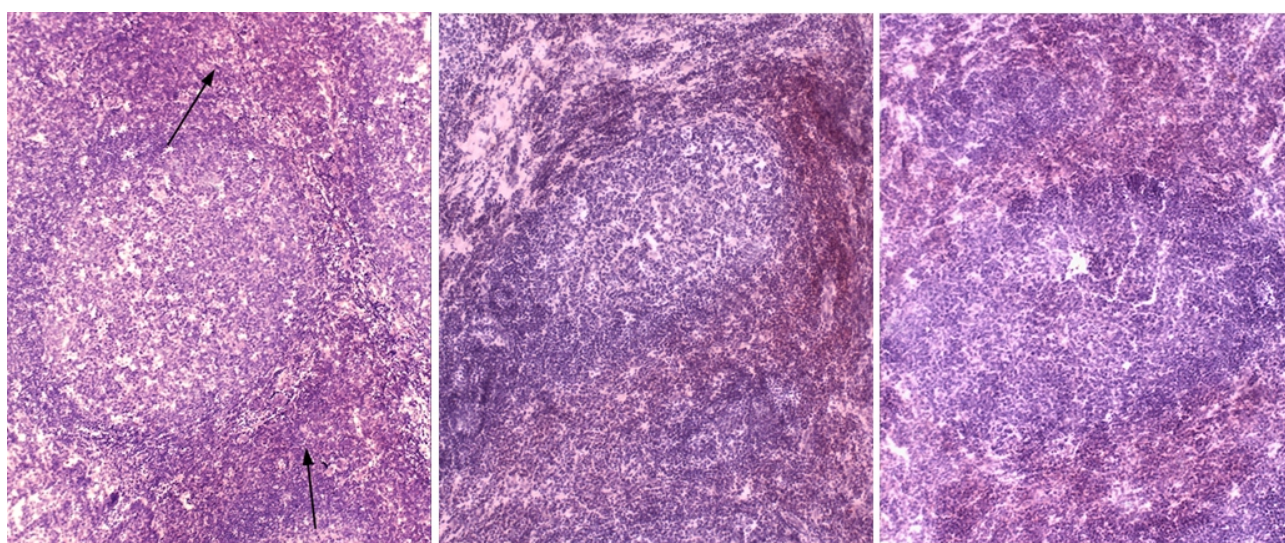
Ензимска активност DPP IV на лимфоцитима тонзила код RT (12,27±3,75 нмол/х/10⁶ ћелија) није статистички различита у поређењу са истим параметром код ИТН (10,72±5,94 нмол/х/10⁶ ћелија). Медијана код RT је скоро два пута већа од медијане код ИТН, а појединачне вредности ензимске активности код RT су скоро све веће од појединачних вредности ензимске активности код ИТН (табела 3).

Табела 3. Ензимска активност DPP IV на лимфоцитима тонзила у ИТН и RT.

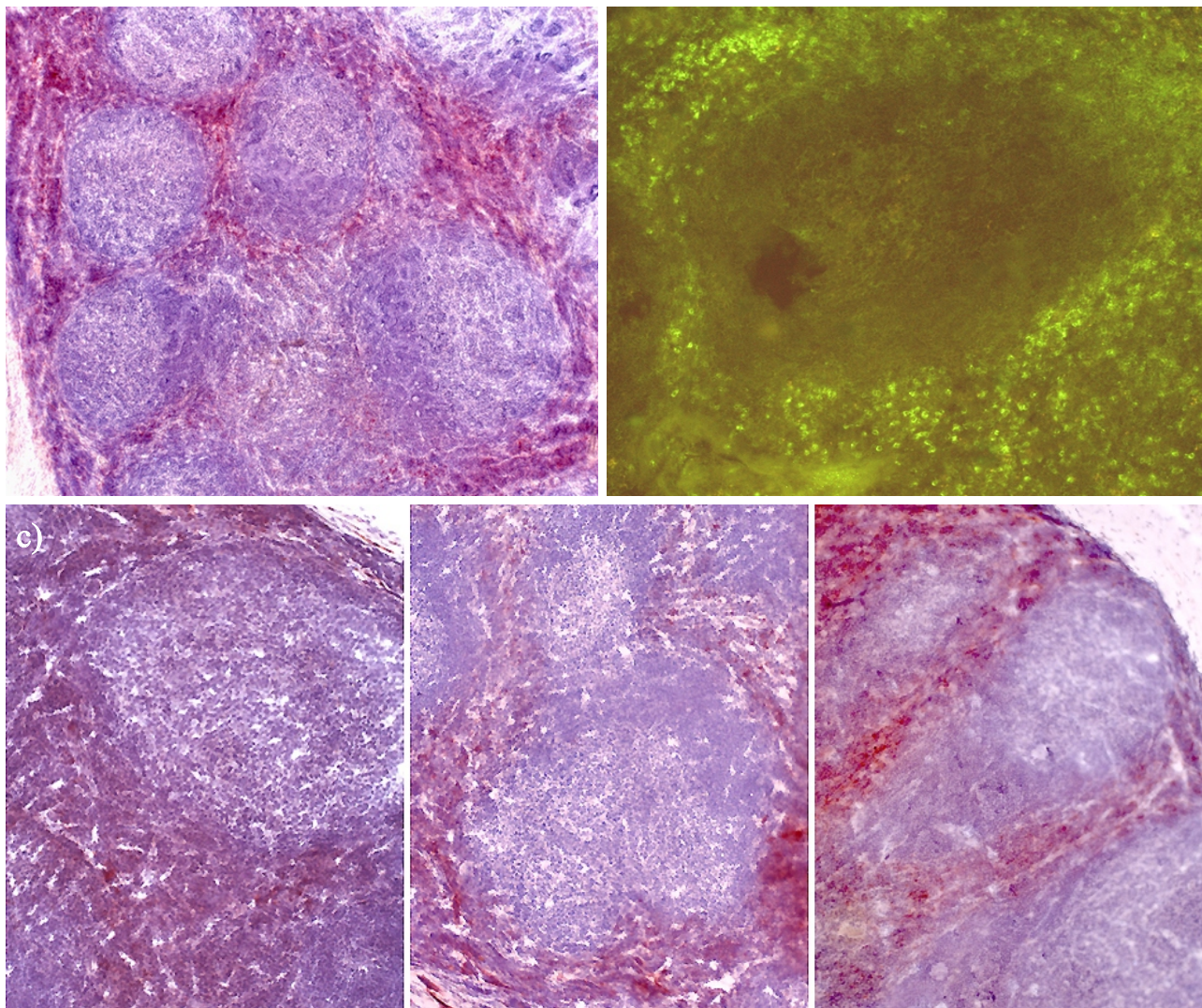
Група	n	DPP IV (nmol/h/10 ⁶ ћелија)			
		X±SD	Медијана	SE	Min-Max
- ИТН	18	10.7±5.9	7.8	1.40	(3.9-26.1)
- RT	11	12.3±3.7	14.3	1.13	(5.3-15.8)

Овакав резултат може се објаснити морфолошким супстратом који се код RT карактерише повећањем запремине интерфоликуларних региона и Т-ћелијске популације у њима, на рачун смањења броја и величине лимфних фоликула, док морфолошки супстрат код ИТН подразумева редукцију интерфоликуларних, тј. Т-зависних региона тонзиле због хипертрофије лимфних фоликула (19), (1).

За тумачење веће активности DPP IV код појединачних случајева испитаника са RT, и вредности медијане



Слика 1. - Хистохемијска локализација ензимске активности DPP IV у ИТН. Уочава се позитивна реакција на DPP IV у интерфоликуларним регионима тонзиле (стрелице), x 100.



Слика 2. - Локализација ензимске активности DPP IV у RT. Зајачају се интензивно обојени интерфоликуларни региони тонзила, а) $\times 50$, ц) $\times 100$. Јака имунофлуоресценција се уочава парафоликуларно док су у лимфном фоликулу позитивне рејке појединачне ћелије, б) $\times 100$.

не која је два пута већа неголи код ИТН, може се узети у обзир и узраст испитаника, јер подаци из литературе показују да се са старењем повећава запремина Т-зависних региона тонзиле (19).

Како РТ одликује дуготрајна антигена стимулација и поновљена запаљења тонзила која резултује повећаном активацијом тонзиларних Т-лимфоцита и повећаном експресијом DPP IV на њиховој површини. Како међу активисаним лимфоцитима, CD4⁺ ћелије које експримирају CD26/DPP IV омогућавају активацију цитотоксичних Т-лимфоцита, што се може сматрати директним уделом DPP IV у ћелијском имуну одговору, и индукују синтезу Ig од стране Б-ћелија, чиме DPP IV индиректно учествује у хуморалном имуну одговору.

Све наведено указује на присуство активисаних Т-лимфоцита и адекватан имуни одговор у тонзилама са РТ, тј. на очуване имуне потенцијале оболелих тонзила и поред поновљених и честих запаљења. Адекватан имуни одговор у тонзилама млађих особа са РТ потврђује и резултат квантификације Ig-продукујућих ћелија који по-

казује да је њихов број значајно већи у поређењу са ИТН (19) и са здравим тонзилама (1).

Ензимска активност диепидил хејпидазе ив у серуму истийиваних зруја

Ензимска активност DPP IV у серуму особа са ИТН и РТ упоређивана је са серумским вредностима тих ензима код здравих особа - контроле (15 узорака крви) и особа оболелих од SLE (39 узорака крви).

Ензимска активност DPP IV у серуму особа са ИТН ($39,82 \pm 6,54$ U/L) статистички је значајно већа ($p < 0,001$) у поређењу са серумским вредностима DPP IV код РТ ($19,2 \pm 2,7$ U/L) и одговарајућим вредностима контролне групе здравих особа ($22,38 \pm 5,88$ U/L). Особе оболеле од SLE имају статистички значајно ($p < 0,001$) снижене вредности ензимске активности DPP IV ($12,48 \pm 4,6$ U/L) у односу на контролну групу и групу са ИТН. Између РТ и контролне групе не постоји статистички значајна разлика у ензимској активности DPP IV, а вредности у

овој групи су више ($p < 0,001$) у односу на оне код оболелих од SLE (табела 4).

Табела 4. Ензимска активност DPP IV у серуму испитаника из различитих група.

Група	DPP IV (U/L)			
	X±SD	Медијана	SE	Min-Max
- Контрола	22.4±5.9	19.7	1.52	(16.2-35.7)
- ITN	39.8±6.5 ^a	38.6	1.50	(29.9-50.9)
- RT	19.2±2.7 ^{b,c}	18.9	0.75	(14.3-24.2)
- SLE	12.5±4.5 ^{a,b}	11.5	0.71	(6.4-23.2)

a - $p < 0,001$ vs. Контрола; b - $p < 0,001$ vs. ITN; c - $p < 0,001$ vs. SLE

Резултати одређивања ензимске активности DPP IV у серуму особа са ITN и RT показују да је ензимска активност DPP IV у ITN значајно већа у поређењу са одговарајућим вредностима код RT.

Овакав резултат указује на повезаност ензимске активности DPP IV са узрастом наших испитаника, што је у складу са истраживањем Durinx-а и сар. (14) који су на великом броју узорака здравих особа уочили да серумске вредности DPP IV опадају са старењем. То може делимично објаснити значајно мање вредности DPP IV у серуму испитаника са RT који су старији у поређењу са испитаницима са ITN.

Различите вредности DPP IV у серуму испитаника са ITN и RT можемо тумачити и на основу података о промени процентуалне заступљености B- и T-ћелија у периферној крви током старења јер са повећањем узраста заступљеност B-ћелија у крви опада, док проценат T-ћелија расте у односу на укупну лимфоцитну популацију. С обзиром да је присуство ензимске активности DPP IV везано за T-ћелијску популацију, активност DPP IV у серуму би требало да је већа код RT, јер су испитаници са RT старије особе.

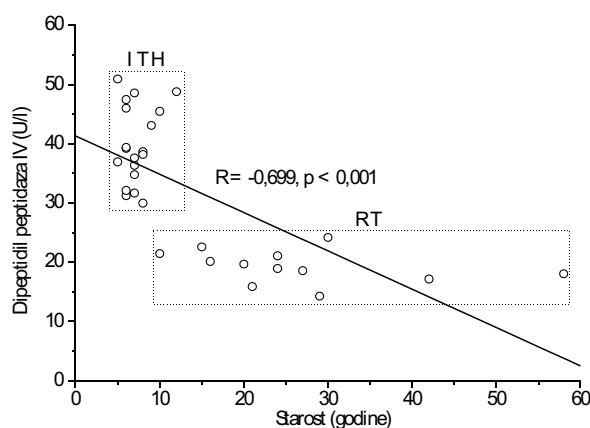
Вредности ензимске активности серумске DPP IV у RT (19,25U/L), у овом експерименту, су значајно мање у поређењу са ITN (39,82U/L), али се не разликују од истих код здравих испитаника (22,38U/L) који су приближно истог животног доба, тако да тај резултат можемо сматрати конзистентним. Важно је истаћи и то да у нашем истраживању серумске вредности код RT значајно корелишу са ензимском активношћу DPP IV на тонзиларним лимфоцитима, на основу чега се може претпоставити да тонзиларни лимфоцити који у циркулацију доспевају преко лимфатика, представљају могући значајан извор серумске форме DPP IV.

Durinx и сар. (14) налазе да је просечна вредност серумске DPP IV, код испитаника животног доба од 19 до 61 годину, око 32 U/L са најнижом вредношћу од 17 U/L и највећом од 50 U/L.

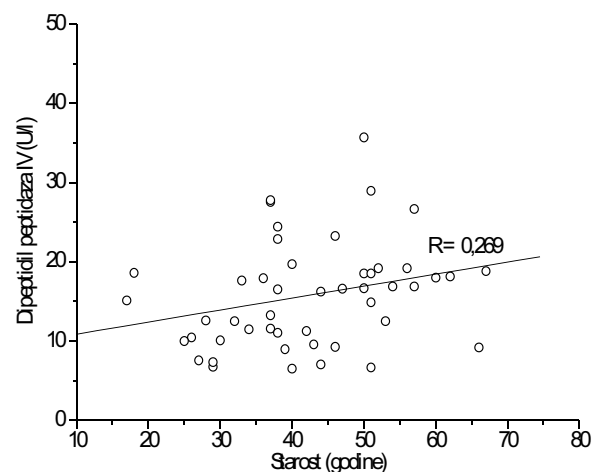
Корелација ензимске активност DPP IV у серуму и тонзиларним лимфоцитима код испитаника

Одређивањем коефицијента корелације (r) и линије регресије између серумских вредности DPP IV у односу на животно доба испитаника, нађено је да серумске

вредности DPP IV у ITN и RT показују високу негативну корелацију ($r = -0,699$; $p < 0,001$) у односу на узраст испитаника (графикон 1).



Графикон 1. - Линејна регресија серумских вредности DPP IV код ITN и RT у односу на животно доба испитаника.



Графикон 2. - Линејна регресија серумских вредности DPP IV код контролне групе и оболелих од SLE у односу на животно доба испитаника.

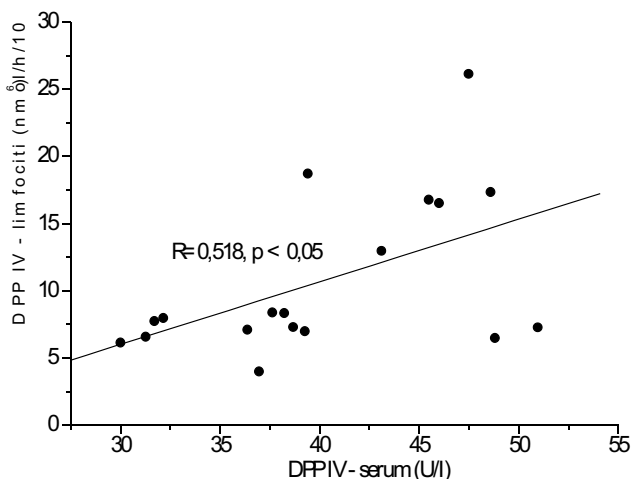
Серумске вредности DPP IV (графикон 2) код контролне групе, тј. здравих особа и особа оболелих од SLE не показују корелацију са животно добом испитаника: за DPP IV коефицијент корелације је $r = 0,269$.

Корелација ензимске активност DPP IV у серуму и тонзиларним лимфоцитима код испитаника

Одређивањем коефицијента корелације DPP IV активности на тонзиларним лимфоцитима и у серуму испитаника са RT уочено је да постоји сигнификантна корелација ($r = 0,518$), при чему су вредности DPP IV у серуму ($19,2 \pm 2,7$) значајно веће ($p < 0,05$) у поређењу са одговарајућим вредностима на тонзиларним лимфоцитима ($12,3 \pm 3,7$) (графикон 3).

Линејна регресија активности DPP IV код испитаника са ITN показује да су вредности у тонзилама и се-

рму различите, тј. ниже на тонзиларним лимфоцитима а високе у серуму. Овакав налаз указује на то да серумске вредности DPP IV не морају да рефлектују стање у тонзилама већ да и други извори серумске DPP IV, као што су ендотелне ћелије, утичу на активност DPP IV у крви испитаника.



Графикон 3. - Линија регресије ензимске активности DPP IV у серуму у односу на ензимску активност DPP на лимфоцитима код ИТН.

Високе вредности серумске DPP IV у ИТН могу бити значајне јер је доказано да DPP IV инактивише и модулише системске ефекте неких биоактивних пептида. Познато је, наиме, да DPP IV учествује у разградњи неких регулаторних пептида (17), па се на тај начин DPP IV укључује у неуроендокрине механизме у организму. Посебно је изучено дејство DPP IV на неуропептид Y, значајан за контролу апетита, што се може довести у везу са запажањем да код деце са хроничним тонзилитом често постоји губитак апетита и застој у расту, и да се такво стање поправља после тонзилектомије.

Како је код тонзила са ИТН примећено често одсуство знакова запаљења, можемо претпоставити да DPP IV у тонзилама са ИТН учествује у активацији Т-тонзиларних лимфоцита али да, вероватно, изостаје локални ефекат у модулацији проинфламаторних цитокина продукованих од стране Т- и Б-лимфоцита (20).

ЗАКЉУЧАК

1. Хистохемијска и имунохистохемијска локализација DPP IV идентична је у тонзилама са ИТН и RT и одговара дистрибуцији Т-ћелијске популације.

2. Ензимска активност DPP IV на тонзиларним лимфоцитима већа је код RT него код ИТН, док је ензимска активност серумске форме DPP IV већа у ИТН у поређењу са RT.

3. Ензимска активност серумске форме DPP IV код RT корелише са ензимском активношћу DPP IV на тонзиларним лимфоцитима и одражава степен активације Т- лимфоцита у имуном одговору тонзила током хроничног тонзилита.

4. Серумске вредности ензимске активности DPP IV опадају са повећањем узраста.

Различита активност екто-ензима DPP IV на тонзиларним лимфоцитима код ИТН и RT претпоставља разлику у имуном одговору тонзила током хроничног запаљењског процеса, што ИТН и RT сврстава у посебне ентитете.

ЛИТЕРАТУРА

1. Avramović V. Topografska distribucija i kvantifikacija imunoglobulin-produkujućih ćelija kod antigen stimulisane tonzile. Doktorska disertacija. Medicinski fakultet, Niš, 1992.
2. Bednarczyk JL, Carroll SM, Marin C, McIntyre BW. Triggering of the proteinase dipeptidyl peptidase IV (CD26) amplifies human T lymphocyte proliferation. J Cell Biochem 1991; 46: 206-18.
3. Gorrell MD, Gysbers V, McCaughan GW. CD26: a multifunctional integral membrane and secreted protein of activated lymphocytes. Scand J Immunol 2001; 54(3): 249-64.
4. Mentlein R. Dipeptidyl-peptidase IV (CD26)-role in the inactivation of regulatory peptides. Regul Pept 1999; 85(1): 9-24.
5. Fleischer B, Sturm E, De-Vries JE, Spits H. Triggering of cytotoxic T lymphocytes and NK cell via the Tp 103 pathway is dependent on the expression of the T cell receptor/CD3 complex. J Immunol 1988; 141: 1103-07.
6. Gorrell MD, Wickson J, McCaughan GW. Expression of the rat CD26 antigen (dipeptidyl peptidase IV) on subpopulations of rat lymphocytes. Cell Immunol 1991; 134: 205-15.
7. Cordero OJ, Salgado EJ, Vinuela LE, Nogueira M. Interleukin-12 enhances CD26 expression and dipeptidyl peptidase IV function on human activated lymphocytes. Immunobiology 1997; 197: 522-33.
8. Bühling F, Junker U, Reinhold D, Neubert K, Jager L, Ansorge S. Functional role of CD26 on human B lymphocytes. Immunol Lett 1995; 45: 47-51.
9. Kähäne T, Lemdeckel U, Wrenger S, Neubert K, Ansorge S, Reinhold D. Dipeptidyl peptidase IV. A cell surface peptidase involved in regulating T cell growth. Int J Mol Med 1999; 93: 199-211.
10. Hegen M, Kameoka J, Dong RP, Schlossman SF, Morimoto C. Cross-linking of CD26 by antibody induces tyrosine phosphorylation and activation of mitogen-activated protein kinase. Immunology 1997; 90: 257-64.
11. Kähne T, Neubert K, Faust J, Ansorge S. Early phosphorylation events induced by DPPIV/CD26-specific inhibitors. Cell Immunol 1998; 189: 60-6.
12. De Meester i, Vanham G, Kestens L et al. Binding of adenosine deaminase to the lymphocyte surface via CD26. Eur J Immunol 1994; 24: 566-70.
13. Martin M, Huguet J, Centelles JJ, Franco R. Expression of ecto-adenosine deaminase and CD26 in human T cells triggered by the TCR-CD3 complex- possible role of adenosine deaminase as costimulatory molecule. J Immunol 1995; 155: 4630-43.
14. Durinx C, Neels H, Van der Auwera JC, Naelaerts K, Scharpe S, De Meester I. Reference values for plasma dipeptidyl-peptidase IV activity and their association with other laboratory parameters. Clin Chem Lab Med 2001; 39(2): 155-59.
15. Tanaka T, Camerini D, Seed B et al. Cloning and functional expression of the T cell activation antigen CD26. J Immunol 1992; 149: 481-86.
16. Fleischer B. CD26: a surface protease involved in T-cell activation. Immunology Today 1994; 15 (4): 180-184.

17. Mentlein R, Heymann E, Scholz W, Feler AC, Flad HD. Di-peptidil peptidase IV as a new surface marker for a suppopulation of human T-lymphocytes. *Cellular Immunology* 1984; 89: 11-19.
18. Resta R, Thompson LF. T cell signaling through CD73. *Cell Signal* 1997; 9: 131-39.
19. Brandtzaeg P. Immunopathological alteration in tonsillar disease. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1988; Suppl. 454: 64-69.
20. Agren K, Andersson U, Litton M, Funa K, Nordlander B, Andersson J. The production of immunoregulatory cytokines is localized to the extrafollicular area of human tonsils. *Acta Otolaryngol* 1996; 116: 477-485.