Таким образом, иммобилизационный стресс приводит к нарушению структуры и функции печени, которое достигает наибольшей степени в период перехода стадии тревоги в стадию резистентности и выражается в гипердилятации синусоидных капилляров, балонной дистрофии гепатоцитов с последующим их распадом, в некрозе 75% паренхимы и соединительнотканной стромы, опустошении депо гликогена, торможении коллагеногенеза. В стадию резистентности иммобилизационного стресса, до 7 суток наблюдения структура печени, несмотря на активную пролиферацию гепатоцитов, восстанавливается лишь частично (паренхима на 78%, соединительнотканная строма на 25%), сосудистое русло не нормализуется, синтез гликогена и коллагеногенез малоактивны.

THE HEPATIC STRUCTURE IN THE DYNAMICS OF THE IMMOBILIZATION STRESS

I.S. Vyborova, Handgav Udval, L.S. Vasilyeva, N.G.Makarova
(Irkutsk State Medical University)

In experiment on the rats the dynamics of alteration and restoration of liver structure at immobilization stress is revealed. Is shown, that the maximum damage of liver structure develops at the end of stress alarm stage. In a resistance stage of stress the liver parenchyma is restored 3 times more actively, than the stroma.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Автандилов Г.Г.* Медицинская морфометрия. – М.: Медицина, 1990.- 384с.
2. *Автандилов Г.Г.* Проблемы патологоанатомической диагностики болезней в аспектах морфометрии. – М.: Медицина, 1984. - 228с.
3. *Ллойд Э., Ледерман У.* Справочник по прикладной статистике. – М.: Финансы и статистика, 1989. – Т. 1. – 512 с.
4. *Луппа Х.* Основы гистохимии. – М.: Мир, 1980. – 343 с.
5. *Маянский А.Н.* Роль стромы печени в патогенезе гепатоцитов. – Вестник АМН СССР. –1988. - № 5. – С. 81-87.

© ЛАПЕШИН П.В. –

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА КЛЕТОК ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ И ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА У БОЛЬНЫХ ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫМ И ЖЕЛЕЗИСТЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО В ЗАВИСИМОСТИ ОТ МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ В РЕГИОНАЛЬНЫЕ ЛИМФАТИЧЕСКИЕ УЗЛЫ

П.В. Лапешин

(Красноярская государственная медицинская академия, ректор – д.м.н., профессор И.П. Артюхов; ГУ НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН, директор – д.м.н., проф. В.Т. Манчук)

Резюме. С целью изучения состояния иммунной системы и метаболизма клеток здоровой и опухолевой ткани в зависимости от метастазирования и гистологической структуры немелкоклеточного рака легкого обследованы больные плоскоклеточным раком легкого и аденокарциномой. Установлено, что характерной особенностью при метастазировании, независящей от гистологической структуры рака, является снижение уровней концентраций иммунорегуляторных фракций Т-лимфоцитов и повышение содержания NK-клеток в периферической крови. Исследуемые параметры гуморального иммунитета не имеют характерных особенностей в зависимости от гистологической структуры мелкоклеточного рака легкого и метастазирования. Наиболее выраженные изменения в лимфоузлах выявляются у больных ПКР N2 и определяются понижением величины иммунорегуляторного индекса и активированных Т-лимфоцитов при повышении концентрации В-лимфоцитов. Особенностью обменных процессов клеток здоровой ткани легкого у больных немелкоклеточным раком легкого при метастазировании является активация пластических и аэробных процессов, которые более выражены при аденокарциноме. В клетках опухолевой ткани легкого у больных раком при метастазировании активированы только аэробные реакции. Причем, данная активация более выражена у больных аденокарциномой.

Ключевые слова. Немелкоклеточный рак легкого, метастазирование, иммунная система, лимфоузлы, здоровая ткань легкого, опухолевая ткань легкого, НАДФ-зависимые дегидрогеназы, анаэробные и аэробные процессы, пластические процессы.

За последние 40 лет рак легкого прочно занял лидирующие позиции в структуре онкологической заболеваемости населения планеты. Наиболее высокие показатели заболеваемости раком легкого отмечены в индустриально развитых странах. Доказано, что от гистологической структуры немелкоклеточного рака легких зависит скорость роста опухоли и переход на стадию метастазирования [13,14]. На сегодняшний день установлено, что рост опухоли сопровождается развитием иммунологической недостаточности [3,4,8,16]. Причем, механизмы, определяющие иммунодефицит, до сих пор не определены. Между тем, ряд исследователей счита-

ют, что раковые клетки за счет широкого спектра механизмов влияют на созревание и селекцию иммунокомпетентных клеток [2,7,15]. В связи с этим, можно предположить, что интенсивность метаболических процессов, определяющих как энергетические, так и пластические реакции в опухолевых клетках, может определять особенности реактивности иммунной системы. Следовательно, сам процесс развития опухоли и ее метастазирования зависит как от реактивности иммунной системы, так и особенности метаболизма клеток опухолевой ткани.

Целью исследования явилось изучение состояния иммунной системы и метаболизма клеток здоровой и опухолевой легочной ткани у больных немелкоклеточным раком легкого в зависимости от гистологической структуры и метастазирования.

Материалы и методы

На базе торакального отделения Красноярского краевого онкологического центра обследован 81 больной мужского пола с немелкоклеточным раком легкого в возрасте 30–55 лет. Кровь на исследование забиралась на следующий день после поступления. Всем больным выполнены операции: расширенные лоб-, билоб- и пульмонэктомии. Лимфоузлы корня легкого и ткань легкого забирались во время операции. Деление опухолей по гистологическому строению проводили согласно Международной гистологической классификации опухолей легких. Наличие или отсутствие метастазов в лимфоузлах корня легкого определяли гистологическим методом. В качестве контроля обследовано 106 здоровых мужчин аналогичного возраста.

Выделение общей фракции лимфоцитов осуществляли по общепринятому методу в градиенте плотности фиколл-верографина с последующей очисткой от прилипающих клеток. Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов крови и лимфоузлов оценивали с помощью метода непрямой иммунофлуоресценции с использованием моноклональных антител CD3, CD4, CD8, CD16, HLA-DR и CD72. Для дополнительной характеристики Т-клеточного звена иммунной системы вычисляли иммунорегуляторный (CD4+/CD8+) и индекс активации Т-лимфоцитов (HLA-DR+/CD72+). Концентрацию иммуноглобулинов класса A, M, G в сыворотке крови определяли методом иммунодиффузии по Манчини. Состояние гуморального иммунитета характеризовали также уровнем относительного синтеза Ig A (Ig A/CD72+), Ig M (Ig M/CD72+) и Ig G (Ig G/CD72+). Определение активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в клетках здоровой и опухолевой ткани легкого проводили биолюминесцентным методом [5]. Данным методом определялась активность следующих ферментов: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ, КФ 1.1.1.49), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (Г3ФДГ, КФ 1.1.1.8), малик-фермента (НАДФМДГ, КФ 1.1.1.40), НАД- и НАДН-зависимой реакции лактатдегидрогеназы (ЛДГ и НАДН-ЛДГ, КФ 1.1.1.27), НАД- и НАДН-зависимой реакции малатдегидрогеназы (МДГ и НАДН-МДГ, КФ 1.1.1.37), НАДФ- и НАДФН-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАДФ-ГДГ и НАДФН-ГДГ, КФ 1.4.1.4), НАД- и НАДН-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАД-ГДГ и НАДН-ГДГ, КФ 1.4.1.2), НАД- и НАДФ-зависимых изоцитратдегидрогеназ (НАД-ИЦДГ, КФ 1.1.1.41 и НАДФ-ИЦДГ, КФ 1.1.1.42, соответственно) и глутатионредуктазы (ГР, КФ 1.6.4.2). Активность дегидрогеназ в клетках здоровой и опухолевой ткани легкого выражали в мкЕ/мг белка (1 Е=1 мкмоль/мин [1]).

Для всех полученных данных определяли среднее арифметическое значение (M) и ошибку средней арифметической (m). Проверку гипотезы о статистической достоверности величин иммунологических показателей, а также межгрупповое сравнение значений уровней активности исследуемых ферментов проводили с помощью критерия Манна-Уитни. Сравнение величин уровней активности дегидрогеназ здоровой ткани и опухолевой ткани легкого осуществляли по критерию Вилкоксона. Исследование силы взаимосвязей между исследуемыми параметрами осуществляли методом ранговой корреляции по Спирмену. Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0 (StatSoft, Inc.).

Результаты и обсуждение

Показатели клеточного иммунитета в зависимости от гистологической структуры немелкоклеточного рака легкого и метастазирования представлены в таблице 1. Обнаружено, что наиболее выраженные изменения в состоянии клеточного звена иммунной системы выявляются у больных плоскоклеточного рака (ПКР) N2. Только в данной группе больных снижена абсолютная концентрация общих лимфоцитов и CD3+-клеток и относительное содержание CD8+-лимфоцитов (причем, как относительно контрольного диапазона, так и значений, выявленных у больных ПКР N0). У больных ПКР N2 и аденокарциномой легкого N0 и N2 повышен уровень лейкоцитов в периферической крови при понижении процентного содержания общих лимфоцитов. Единственной характерной особенностью иммунного статуса у больных ПКР N0 является повышение величины индекса активации Т-лимфоцитов. У больных ПКР N2 относительно контрольного диапазона и значений, выявленных у больных ПКР N0, повышена процентная концентрация CD16+-клеток. Только у больных аденокарциномой N0 установлено статистически достоверное повышение абсолютного уровня CD72+-лимфоцитов. Кроме того, у больных ПКР N0 и аденокарциномой N0 обнаружено повышение абсолютного содержания HLA-DR+-лимфоцитов. При этом увеличение величины данного показателя у больных ПКР N0 проявляется и относительно значений, выявленных у больных ПКР N2. У больных аденокарциномой N0 снижена относительная концентрация CD16+-лимфоцитов, в то время как у больных аденокарциномой N2 относительно контрольного диапазона и значений, обнаруженных у больных аденокарциномой N0, повышена абсолютная концентрация CD16+-клеток.

Независимо от гистологии немелкоклеточного рака легкого, но только у больных с выявленным метастазированием в лимфоузлы понижена абсолютная концентрация CD4+- и CD8+-лимфоцитов. Причем обнаружено, что содержание CD4+-клеток у больных аденокарциномой N2 статистически достоверно ниже также и относительно показателей больных аденокарциномой N0. Кроме того, у больных ПКР N2 уровень концентрации CD8+-клеток также был ниже, чем в группе больных с ПКР N0. Общей особенностью иммунного статуса у всех групп больных немелкоклеточным раком

Таблица 1

Состояние клеточного иммунитета у больных ПКР и аденокарциномой в зависимости от метастазирования в лимфоузлы (M ± m)

Показатели	Средние величины показателей в группах				
	Контроль	ПКР		Аденокарцинома	
		N0	N2	N0	N2
	n=106	n=24	n=25	n=21	n=11
	1	2	3	4	5
Лейкоциты, (10^9/л)	6,35±0,16	7,01±0,65	7,27±0,62 0,1>P_1>0,05	7,31±0,14 P_1<0,01	7,63±0,78 P_1<0,05
Лимфоциты, (%)	38,6±0,7	35,1±2,1	28,5±2,4 P_1<0,001 P_2<0,05	28,1±1,4 P_1<0,001	24,6±2,8 P_1<0,001
Лимфоциты, (10^9/л)	2,27±0,06	2,28±0,16	1,83±0,10 $P_{1,2}$<0,05	2,00±0,10	2,16±0,37
$CD3^+$, (%)	66,6±0,6	55,6±2,7 P_1<0,001	55,7±3,1 P_1<0,001	59,9±2,6 P_1<0,01	56,2±3,5 P_1<0,01
$CD3^+$, (10^9/л)	1,48±0,05	1,37±0,10	0,98±0,09 $P_{1,2}$<0,001	1,29±0,10	1,19±0,25
$CD4^+$, (%)	41,4±0,8	31,3±2,4 P_1<0,001	31,4±2,2 P_1<0,001	33,8±1,8 P_1<0,001	29,5±3,1 P_1<0,001
$CD4^+$, (10^9/л)	0,93±0,03	0,75±0,07	0,61±0,06 P_1<0,01	0,74±0,06	0,51±0,09 P_1<0,01 P_4<0,05
$CD8^+$, (%)	26,6±0,7	28,7±1,5	23,5±1,3 $P_{1,2}$<0,05	29,4±1,7	27,1±2,1
$CD8^+$, (10^9/л)	0,62±0,02	0,54±0,05	0,40±0,04 $P_{1,2}$<0,05	0,65±0,05	0,47±0,07 P_4<0,05
$CD16^+$, (%)	19,7±0,5	21,8±1,9	26,1±1,4 P_1<0,001 P_2<0,05	17,6±1,2 $P_{1,2}$<0,05	25,9±3,6 $P_{1,4}$<0,01
$CD16^+$, (10^9/л)	0,47±0,02	0,52±0,05	0,44±0,04	0,41±0,04	0,61±0,12 $P_{1,4}$<0,05
$CD72^+$, (%)	12,5±0,4	18,1±2,1 P_1<0,01	16,6±1,7 P_1<0,01	18,2±1,4 P_1<0,001	19,2±1,5 P_1<0,001
$CD72^+$, (10^9/л)	0,28±0,01	0,32±0,04	0,34±0,05	0,41±0,04 P_1<0,001	0,33±0,06
$HLA\text{-}DR^+$, (%)	16,0±0,5	24,4±1,8 P_1<0,001	20,8±1,4 P_1<0,001 P_2<0,05	23,0±2,0 P_1<0,001	23,6±1,5 P_1<0,001
$HLA\text{-}DR^+$, (10^9/л)	0,37±0,02	0,53±0,05 P_1<0,01	0,38±0,04 P_2<0,05	0,50±0,04 P_1<0,01	0,49±0,08
$CD4^+/CD8^+$	1,49±0,04	1,07±0,11 P_1<0,01	1,21±0,08 P_1<0,05	1,18±0,08 P_1<0,01	1,13±0,14 P_1<0,05
$HLA\text{-}DR^+/CD72^+$	1,20±0,04	1,58±0,32 P_1<0,05	1,14±0,07	1,36±0,20	1,37±0,18

Примечание: P1 – статистически достоверные различия относительно показателей контрольной группы; P2 – -//- относительно показателей больных ПКР N0; P4 - -//- относительно показателей больных аденокарциномой N0.

легкого явилось снижение относительного содержания CD3+- и CD4+-лимфоцитов с понижением величины иммунорегуляторного индекса, при повышении процентной концентрации CD72+- и HLA-DR+-клеток.

При исследовании особенностей гуморального иммунитета обнаружено, что некоторые из исследуемых параметров у больных немелкоклеточным раком легкого не имеют характерной особенности в зависимости от гистологического строения и метастазирования (табл. 2). Так, у всех больных немелкоклеточным раком легкого снижается уровень относительного синтеза Ig A и концентрация ЦИК в сыворотке крови. Также независимо от гистологической структуры и метастазирования у больных раком легкого повышается сывороточная концентрация Ig A и снижается уровень относительного синтеза Ig G. Однако у больных ПКР N2 повышение сывороточной концентрации Ig A относительного контрольного диапазона менее выражено, чем у больных ПКР N0, тогда как у больных аденокарциномой N2 выявляется менее выраженное снижение уровня относительного синтеза Ig G. У больных ПКР N0 и аденокарциномой N0 и N2 повышается содержание Ig M в сыворотке крови относительно контрольного диапазона, но у больных ПКР N0 увеличение концентрации данного класса иммуноглобулина проявляется и относительно значений, установленных у больных ПКР N2. Независимо от метастазирования снижается концентрация Ig G у больных ПКР и уровень относительного синтеза Ig M с аденокарциномой. В то же время, у больных аденокарциномой N0 содержание Ig G снижается как относительно контрольного диапазона, так и относительно значений показателя в группе с аде-

Таблица 2

Состояние гуморального иммунитета у больных аденокарциномой и ПКР в зависимости от метастазирования в лимфоузлы (M ± m)

Показатели	Средние величины показателей в группах				
	Контроль	ПКР		Аденокарцинома	
		N0	N2	N0	N2
	n=106	n=24	n=25	n=21	n=11
	1	2	3	4	5
Ig A, (г/л)	2,23±0,08	3,84±0,34 P_1<0,001	3,03±0,21 P_1<0,001 P_2<0,05	3,64±0,40 P_1<0,001	4,61±0,61 P_1<0,001
Ig M, (г/л)	1,20±0,06	1,98±0,18 P_1<0,001	1,01±0,13 P_2<0,001	1,95±0,21 P_1<0,001	1,82±0,22 P_1<0,01
Ig G, (г/л)	10,93±0,32	7,89±0,71 P_1<0,01	8,05±0,61 P_1<0,01	6,96±0,94 P_1<0,001	11,58±1,89 P_4<0,05
Ig A/CD72$^+$, (нг/клетку)	8,65±0,71	3,95±0,50 P_1<0,01	3,87±0,44 P_1<0,001	3,12±0,36 P_1<0,001	4,10±0,62 P_1<0,05
Ig M/CD72$^+$, (нг/клетку)	7,43±0,78	4,28±0,89	1,28±0,13 $P_{1,2}$<0,001	1,98±0,24 P_1<0,01	1,65±0,22 P_1<0,01
Ig G/CD72$^+$, (нг/клетку)	39,90±2,31	10,30±1,92 P_1<0,001	8,84±1,06 P_1<0,001	6,71±1,15 P_1<0,001	10,66±1,74 P_1<0,001 P_4<0,05
ЦИК, (о.е.)	47,16±2,92	7,90±1,06 P_1<0,001	5,98±1,26 P_1<0,001	6,09±1,20 P_1<0,001	13,24±6,65 P_1<0,01

Примечание: P1 – статистически достоверные различия относительно показателей контрольной группы; P2 – -//- относительно показателей больных ПКР N0; P3 - -//- относительно показателей больных ПКР N2; P4 - -//- относительно показателей больных аденокарциномой N0.

нокарциномой N2. Тогда как, у больных ПКР N2 уровень относительного синтеза Ig M снижается и относительно контрольного диапазона, и относительно показателей, выявленных в группе ПКР N0.

При исследовании фенотипического состава иммунокомпетентных клеток в лимфоузлах корня легкого у больных немелкоклеточным раком легкого в зависимости от гистологической структуры и метастазирования обнаружено, что у больных ПКР N2 относительно показателей группы с ПКР N0 повышена относительная концентрация CD72+-лимфоцитов и снижен уровень HLA-DR+-клеток и величины иммунорегуляторного индекса и индекса активации Т-лимфоцитов (табл. 3). У больных аденокарциномой N0 также нашли процентное содержание CD72+-лимфоцитов относительно показателей группы с ПКР N0, а также снижение концентрации HLA-DR+-клеток и величины индекса активации Т-лимфоцитов. Характерных особенностей фенотипического состава лимфоцитов в лимфоузлах у больных аденокарциномой N2 не обнаружено.

Таблица 3

Фенотипический состав лимфоцитов в лимфоузлах у больных аденокарциномой и ПКР в зависимости от метастазирования в лимфоузлы (M ± m)

Показатели	Средние величины показателей в группах			
	ПКР		Аденокарцинома	
	N0	N2	N0	N2
	n=7	n=14	n=8	n=6
	1	2	3	4
CD3$^+$, (%)	49,3±6,6	51,2±3,3	41,2±3,8	48,7±5,2
CD4$^+$, (%)	29,1±5,3	25,1±3,1	23,4±2,8	27,5±4,8
CD8$^+$, (%)	18,9±5,4	22,5±1,5	18,0±3,2	21,8±2,1
CD16$^+$, (%)	26,3±5,8	30,1±3,8	31,0±1,2	30,7±3,5
CD72$^+$, (%)	14,0±4,5	24,2±3,4 P_1<0,05	27,0±2,3 P_1<0,01	21,5±3,7
HLA-DR$^+$, (%)	29,0±4,2	21,3±3,5 P_1<0,05	21,3±2,1 P_1<0,05	21,2±2,6
CD4$^+$/CD8$^+$	2,21±1,14	1,01±0,12 P_1<0,05	1,15±0,23	1,33±0,29
HLA-DR$^+$/CD72$^+$	5,13±3,24	0,76±0,16 P_1<0,01	0,81±0,09 P_1<0,01	1,15±0,25

Примечание: P1 – статистически достоверные различия относительно показателей больных ПКР N0.

Анализ исследуемых иммунологических показателей позволяет выявить у больных немелкоклеточным раком легкого выраженные нарушения в системе как клеточного, так и гуморального иммунитета. Так, независимо от гистологической картины немелкоклеточного рака и метастазирования у больных зарегистрировано снижение концентрации Т-лимфоцитов, при повышении содержания В-лимфоцитов в периферической крови. Кроме того, у больных раком легкого снижается концентрация Т-хелперов/индукторов с понижением, соответственно, величины иммунорегуляторного индекса. У больных немелкоклеточным раком легкого в перифе-

рической крови также обнаружено повышение концентрации лимфоидных клеток с маркером HLA-DR. Данный маркер экспрессируется на активированных Т-лимфоцитах и на всех В-лимфоцитах [11,17]. Для того, чтобы охарактеризовать пул именно активированных Т-лимфоцитов, нами вычислялся индекс активации Т-лимфоцитов, который оказался повышенным только у больных ПКР N0. Причем, повышение величины данного параметра является единственным специфическим изменением иммунного статуса у больных ПКР N0.

В то же время, у больных ПКР N2 отмечается наиболее выраженное нарушение иммунного статуса, что определяется повышением содержания лейкоцитов в периферической крови, но при снижении концентрации общих лимфоцитов. У больных данной группы в крови снижается концентрация регуляторных фракций Т-лимфоцитов (Т-хелперов/индукторов и Т-супрессоров/киллеров), при повышении относительного уровня NK-клеток.

У больных аденокарциномой легкого независимо от метастазирования также повышена концентрация лейкоцитов в периферической крови, при снижении относительного содержания общих лимфоцитов. В то же время, особенностью иммунного статуса у больных аденокарциномой N2 является снижение содержания иммунорегуляторных фракций Т-лимфоцитов и повышение концентрации NK-клеток относительно группы с аденокарциномой N0.

Показатели гуморального иммунитета у больных немелкоклеточным раком легкого значительно изменяются относительно контрольного диапазона, однако характерные особенности в зависимости от гистологической структуры и метастазирования не выражены.

При исследовании особенности фенотипического состава иммунокомпетентных клеток в лимфоузлах у больных немелкоклеточным раком легкого обнаружено, что наиболее выраженные изменения установлены у больных ПКР N2, которые проявляются в повышении концентрации В-лимфоцитов, но при снижении иммунорегуляторного индекса и индекса активации Т-лимфоцитов относительно группы с ПКР N0. Кроме того, установлено, что у больных аденокарциномой N0 относительно группы ПКР N0 также повышена концентрация В-лимфоцитов и снижена величина индекса активации Т-лимфоцитов.

С помощью корреляционного анализа мы исследовали взаимосвязь между популяционным и субпопуляционным составом лимфоцитов крови и лимфоузлов у больных немелкоклеточным раком легкого. Установлено, что у больных ПКР N0 и N2 положительно взаимосвязаны уровни относительной концентрации Т-хелперов/индукторов крови и лимфоузлов ($r=0,90$ и $r=0,60$, $P<0,05$, соответственно). В то же время у больных аденокарциномой N2 выявляется отрицательная взаимосвязь концентрации Т-супрессоров/киллеров крови и лимфоузлов ($r=-0,97$, $P<0,01$). Можно предположить, что у больных данной группы в результате развития иммунной недостаточности проявляются конкурентные взаимоотношения регуляторной фракции Т-лимфоцитов между пулом периферической крови и лимфоузлами средостения.

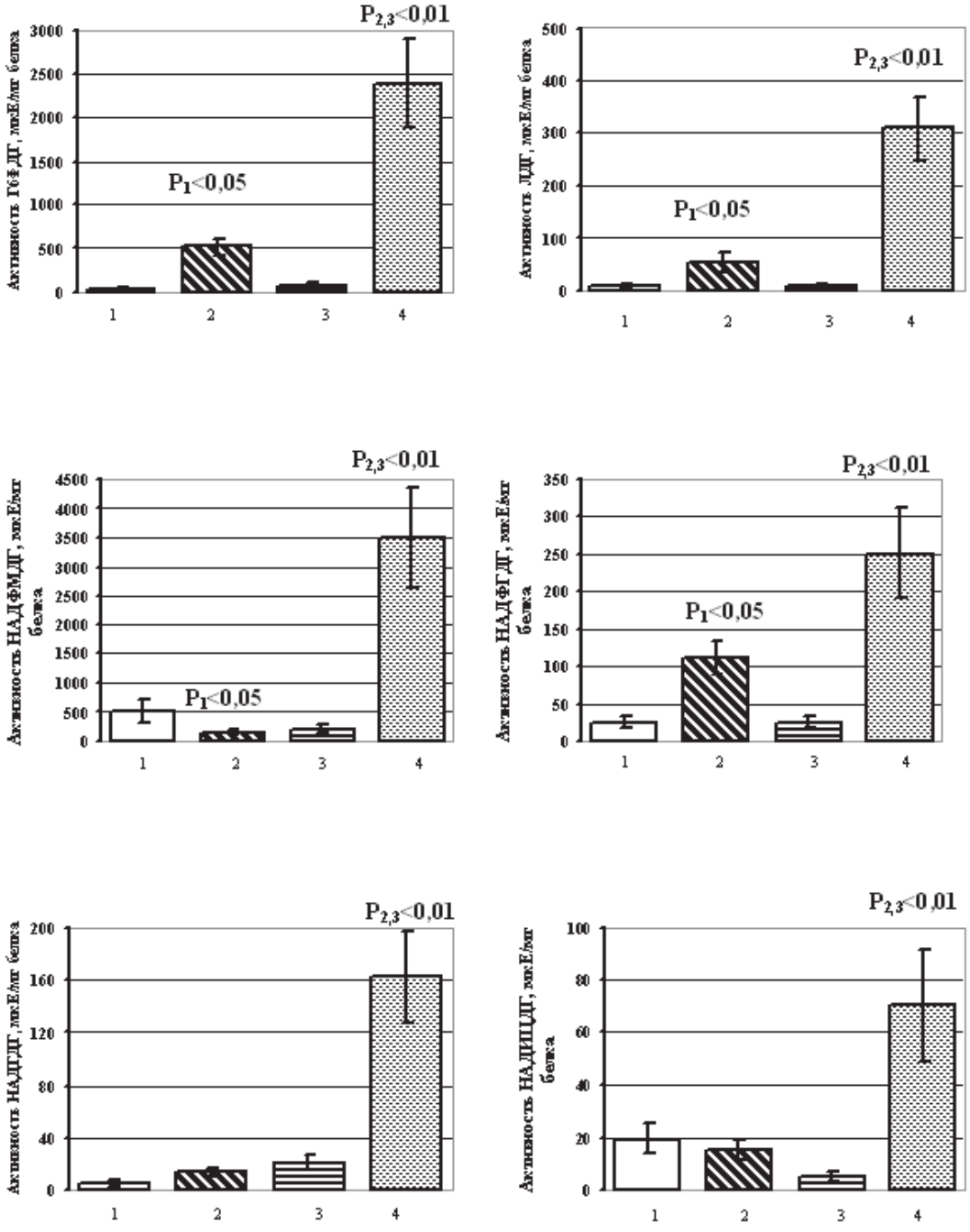
При исследовании метаболизма клеток здоровой ткани легкого в группе с немелкоклеточным раком легкого обнаружено, что активность Г6ФДГ повышена у больных ПКР N2 относительно значений больных ПКР N2 и у больных аденокарциномой относительно показателей больных ПКР N2 и аденокарциномой N0 (рис. 1А). Аналогичным образом в клетках здоровой ткани легкого у больных ПКР N2 и аденокарциномой N2 изменяется активность ЛДГ и НАДФ-ГДГ (соответственно, рис. 1Б и рис. 1Г). У больных ПКР N2 и аденокарциномой N2 активность НАДФМДГ также изменяется аналогичным образом, но при этом выявляется снижение уровня активности данного фермента и в группе с аденокарциномой N0 относительно значений, обнаруженных в клетках здоровой ткани легкого у больных ПКР N0 (рис. 1В). В клетках здоровой ткани легкого у больных аденокарциномой N2 повышается активность НАД-ГДГ (рис. 1Д) и НАД-ИЦДГ (рис. 1Е) относительно значений фермента в группах ПКР N2 и аденокарциномой N0. Кроме того, установлено, что у больных аденокарциномой N2 относительно группы с аденокарциномой N0 повышена активность НАДФ-ИЦДГ (соответственно, 249,12±64,58 мкЕ/мг белка и 11,73±4,96 мкЕ/мг белка, $P<0,01$), МДГ (236,15±70,12 мкЕ/мг белка и 27,18±9,55 мкЕ/мг белка, $P<0,01$), анаэробной реакции ЛДГ (234,23±65,56 мкЕ/мг белка и 56,01±18,54 мкЕ/мг белка, $P<0,01$) и ГР (309,13±100,58 мкЕ/мг белка и 109,60±44,59 мкЕ/мг белка, $P<0,05$). У больных ПКР N2 относительно значений группы с ПКР N0 в клетках здоровой ткани легкого повышена активность Г3ФДГ (124,89±21,15 мкЕ/мг белка и 25,05±7,56 мкЕ/мг белка, $P<0,05$) и снижен уровень НАДН-зависимой реакции МДГ (21,04±7,33 мкЕ/мг белка и 2132,12±521,45 мкЕ/мг белка, $P<0,001$). У больных аденокарциномой N2 относительно показателей аденокарциномой N0 повышены уровни активность Г3ФДГ (436,19±149,10 мкЕ/мг белка и 19,88±6,14 мкЕ/мг белка, $P<0,01$) и НАДН-зависимой реакции МДГ (3678,25±1264,47 мкЕ/мг белка и 674,45±272,41 мкЕ/мг белка, $P<0,05$).

Локализуясь в различных метаболических процессах, исследуемые дегидрогеназы характеризуют различные стороны внутриклеточного обмена веществ. Так, Г6ФДГ является инициализирующим и ключевым ферментом пентозофосфатного цикла, основная функция которого направлена на наработку интермедиатов для реакций макромолекулярного синтеза [1,9]. При этом, у больных ПКР и аденокарциномой с выявленными в лимфоузлах метастазами активность данного фермента повышена. Так как в клетках здоровой ткни легкого у больных ПКР N2 и аденокарциномой N2 повышена активность малик-фермента, являющегося ключевым в системе липидного анаболизма, то можно заключить, что уровень пластических процессов при метастазировании в лимфоузлы значительно повышается. С реакциями, в которых синтезируется НАДФН (Г6ФДГ и НАДФМДГ) достаточно тесно взаимосвязана глутатионовая антиоксидантная система, что проявляется в повышенном уровне активности ГР в клетках здоровой ткани легкого у больных аденокарциномой N2 и отражает активацию данной антиоксидатной системы.

МДГ и НАДИЦДГ являются ферментами цикла трикарбоновых кислот, функция которого направлена на интеграцию энергетических и обменных реакций [10,12]. При этом, НАДГДГ и НАДФГДГ, осуществляя перенос субстратов на цикл Кребса с реакций аминокислотного обмена, дополнительно стимулируют аэробные процессы.

В целом, при метастазировании в лимфоузлы метаболизм клеток здоровой ткани легкого активирован. Однако, при немелкоклеточном раке выявляется одна характерная особенность. Так, у больных ПКР N2 выявляется снижение активности НАДН-зависимой реакции МДГ (ключевой реакции малат-аспартатного шунта митохондрий) относительно значений у ПКР N0, тогда как у больных аденокарциномой N2 активность реакции повышена относительно показателей группы с аденокарциномой N0. Функция малат-аспартатного шунта направлена на поддержание водородного градиента митохондрий и, соответственно, во многом определяет интенсивность метаболических процессов в митохондриях [1,6].

При исследовании уровней активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в клетках опухолевой ткани легкого у больных немелкоклеточным раком легкого в зависимости от гистологической структуры и метастазирования обнаружено, что в группе ПКР N2 по сравнению с показателями больных ПКР N0 повышена активность Г6ФДГ, ЛДГ и НАДФГДГ, но при снижении уровней НАДГДГ и НАДИЦДГ (рис. 2). У больных аденокарциномой легкого N0 относительно показателей больных ПКР N0 повышена активность Г6ФДГ (рис. 2Б). В то же время в клетках опухолевой ткани легкого у больных аденокарциномой N2 относительно значений, установленных в группах с аденокарциномой N0 и с ПКР N2, повышена активность ЛДГ (рис. 2Б),



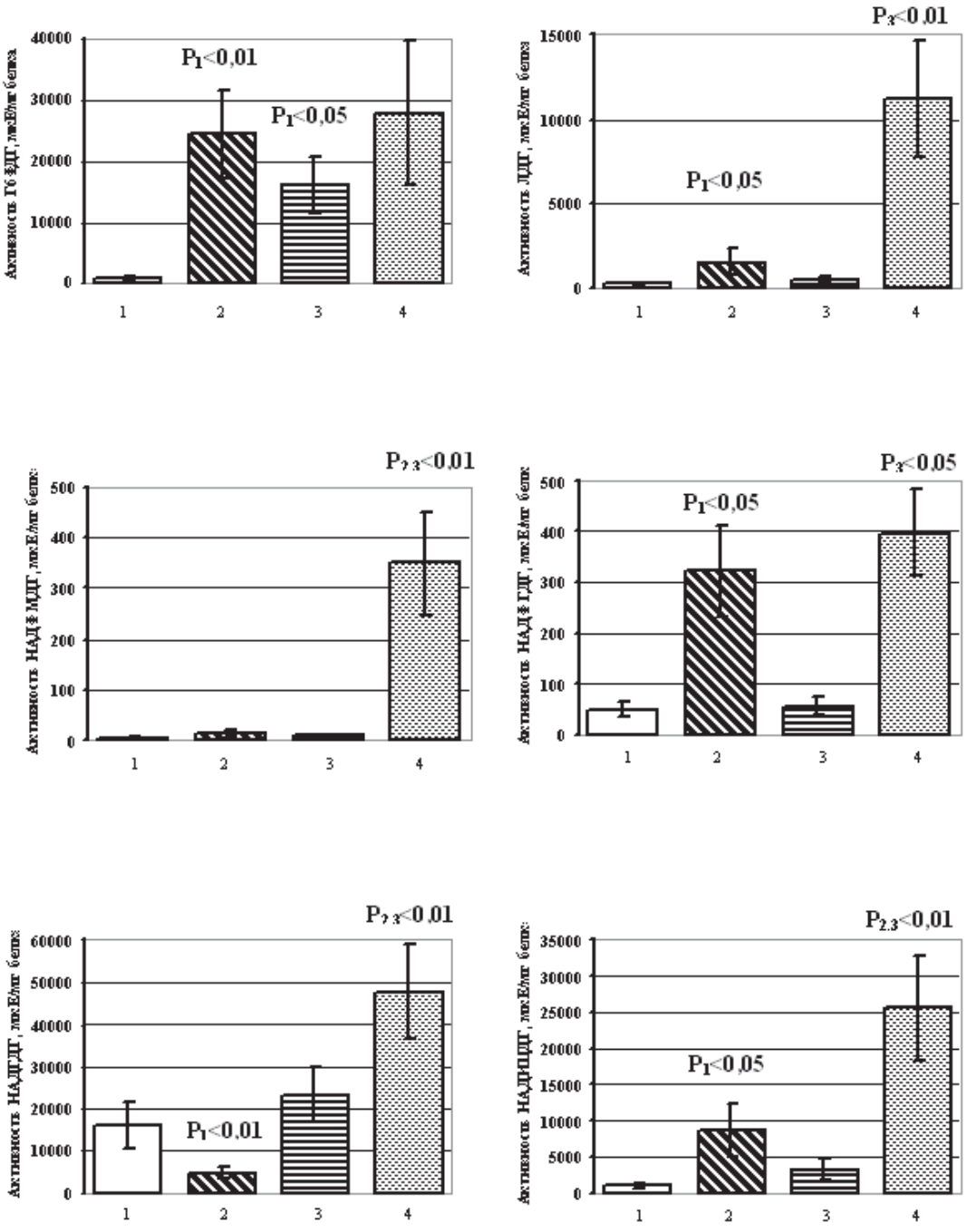
Примечание: 1 – ПКР N0; 2 – ПКР N2; 3 – аденокарцинома N0; 4 – аденокарцинома N2.

Рис. 1. Активность НАД и НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в клетках здоровой ткани легкого у больных ПКР и аденокарциномой в зависимости от метастазирования.

НАДФМДГ (рис. 2В), НАДГДГ (рис. 2Д) и НАДИЦДГ (рис. 2Е). Только относительно больных аденокарциномой N0 в группе с аденокарциномой N2 выявляется повышение активности НАДФГДГ (рис. 2Г). Уровни активности остальных исследуемых дегидрогеназ в клетках опухолевой ткани легкого у больных немелкоклеточным раком легкого не имеют характерных особенностей в зависимости от гистологической формы рака и метастазирования.

Следовательно, метаболизм клеток опухолевой ткани легкого при метастазировании ПКР и аденокарциномы в лимфоузлы характеризуется повышением активности ферментов митохондриального компартмента и, соответственно, интенсивности аэробных процессов. Причем, наиболее выраженное увеличение активности ряда метаболических ферментов в клетках как здоровой, так и опухолевой ткани легкого отмечено у больных аденокарциномой N2.

Таким образом, при исследовании особенностей иммунного статуса крови у больных с немелкоклеточным раком легкого обнаружено, что характерной особенностью при метастазировании, независящей от гистологической структуры рака, является снижение уровней концентраций иммунорегуляторных фракций Т-лимфоцитов и повышение содержания NK-клеток в периферической крови. В то же время, только у больных ПКР N0 на фоне увеличения концентрации В-лимфоцитов в крови повышается пул активированных Т-



Примечание: 1 – ПКР N0; 2 – ПКР N2; 3 – аденокарцинома N0; 4 – аденокарцинома N2.

Рис. 2. Активность НАД и НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в клетках опухолевой ткани легкого у больных ПКР и аденокарциномой в зависимости от метастазирования.

лимфоцитов, тогда как в группах с ПКР N2 и при аденокарциноме повышение концентрации HLA-DR+-клеток совпадает с увеличением содержания В-лимфоцитов. Установлено, что исследуемые параметры гуморального иммунитета не имеют характерных особенностей в зависимости от гистологической структуры мелкоклеточного рака легкого и метастазирования. Наиболее выраженные изменения в лимфоузлах выявляются у больных ПКР N2 и определяются понижением величины иммунорегуляторного индекса и активированных Т-лимфоцитов при повышении концентрации В-лимфоцитов. В целом, характеризуя состояние иммунной системы у больных немелкоклеточным раком, можно заключить об иммунной недостаточности по Т-клеточному типу, которое наиболее выражено у больных с метастазами в лимфоузлах. Причем, у больных аденокарциномой N2 иммунная недостаточность проявляется также в виде конкурентных взаимосвязях концентрации Т-супрессоров/киллеров крови и лимфоузлов. На фоне изменений иммунного статуса у больных немелкоклеточным раком легкого выявляются нарушения метаболических реакций в клетках здоровой и опухолевой ткани легкого в зависимости от гистологической структуры и метастазирования. Особенностью обменных процессов клеток здоровой ткани легкого у больных немелкоклеточным раком легкого при метастазировании является активация пластических и аэробных процессов, которые более выражены при аденокарциноме. В клетках опухолевой ткани легкого у больных раком при метастазировании активированы только аэробные реакции. Причем, данная активация более выражена у больных аденокарциномой. Следовательно, у больных немелкоклеточным раком легкого состояние иммунной системы и метаболизм здоровой и опухолевой ткани легкого имеет выраженные особенности в зависимости от метастазирования в лимфоузлы и в меньшей степени зависит от гистологической структуры рака.

Работа выполнена при поддержке Фонда содействия отечественной медицины.

METABOLIC ACTIVITY IN NORMAL AND TUMOR LUNG CELLS TISSUE AND IMMUNE SYSTEM STATE IN PATIENTS WITH AND WITHOUT METASTASIS IN REGIONAL LYMPH NODES

P.V. Lapeshin
(Krasnoyarsk State Medical Academy, Institute for Medical Problems of the North, Siberian Branch Russian Academy of Medical Sciences)

With the purpose of studying state of immune system and metabolism of healthy and tumoral tissue cells depending on metastasis and histologic structure of non-small cell lung cancer patients with squamous cell carcinoma and adenocarcinome of lung are surveyed. It was revealed, that independently of histological structure of lung cancer in patients with metastasis immunoregulatory T-lymphocytes subpopulations concentration is decreased and blood NK-cells level is increased. Humoral immune system reactions were similar in different types of histological structure of lung cancer. Activity of humoral immune reactions was independent of metastasis. The most severe changes in lymphatic nodes were found in patients with squamous cell carcinoma with metastasis in root lymph nodes. In this group the value of immunoregulatory index is decreased, number of activated T-lymphocytes is also decreased, B-lymphocytes concentration is increased. In healthy lung tissue of patients with non-small cell lung cancer activation of plastic and aerobic metabolic processes type was found. The degree of activation was higher in patients with adenocarcinoma. In tumor lung tissue in patients with metastasis only aerobic reactions are activated. The activation is more severe in patients with adenocarcinoma.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф.* Биологическая химия. - М.: Медицина, 1998. - 704 с.
2. *Головизнин М.В.* Вмешательство раковых клеток в процессы созревания и селекции Т-лимфоцитов как фактор опухолевой прогрессии. // Иммунология. - 2001. - № 6. - С.4-10.
3. *Лысенко О. Н., Стрижова Н. В., Табакман Ю. Ю. и др.* Изменения показателей клеточного и гуморального иммунитета и содержания в крови инсулиноподобного фактора роста 1 (ИФР-1) и ИФР-связывающего белка 3 (ИФРСБ-3) под действием индуктора интерферона амиксина у больных аденокарциномой эндометрия. // Иммунология. - 2003. - № 2. - С.99-103.
4. *Олейник Е.К., Олейник В.М., Бахлаев И.Е., Агеенко А.И.* Изучение фенотипа лимфоцитов периферической крови у больных раком легкого. // Вопросы онкологии. - 2001. - Т. 47, № 4. - С.436-439.
5. *Савченко А.А., Сунцова Л.И.* Высокочувствительное определение активности дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови биолюминесцентным методом. // Лаб. дело. – 1989. – № 11. – С.23-25.
6. *Arai T., Inoue A., Uematsu Y. et al.* Activities of enzymes in the malate-aspartate shuttle and the isoenzyme pattern of lactate dehydrogenase in plasma and peripheral leukocytes of lactating Holstein cows and riding horses. // Res. Vet. Sci. - 2003. - Vol. 75, № 1. - P.15-19.
7. *Batra R.V., Lin Y., Sharma S. et al.* Non-small cell lung cancer-derived soluble mediators enhance apoptosis in activated T lymphocytes through an IkB kinase-dependent mechanism. // Cancer Research. - 2003. - Vol. 63. - P.642-646.
8. *Chen Y.-M., Yang W.-K., Ting C.-C. et al.* Cross regulation by IL-10 and IL-2/IL-12 of the helper T cells and the cytolytic activity of lymphocytes from malignant effusions of lung cancer patients. // CHEST. - 1997. - Vol. 112. - P.960-966.
9. *Clarke J.L., Vulliamy T.J., Roper D. et al.* Combined glucose-6-phosphate dehydrogenase and glucosephosphate isomerase deficiency can alter clinical outcome. // Blood Cells Mol. Dis. - 2003. - Vol. 30, № 3. - P.258-263.
10. *Dawson K.D., Howarth K.R., Tarnopolsky M.A. et al.* Short-term training attenuates muscle TCA cycle expansion during exercise in women. // J. Appl. Physiol. - 2003. - Vol.95, № 3. - P.999-1004.

11. *Foukas P.G., Tsilivakos V., Zacharatos P. et al.* Expression of HLA-DR is reduced in tumor infiltrating immune cells (TIICs) and regional lymph nodes of non-small-cell lung carcinomas. A putative mechanism of tumor-induced immunosuppression? // Anticancer Res. - 2001. – Vol. 21, № 4A. - P.2609-2615.
12. *Lu S., Sun X., Shi C., Zhang Y.* Determination of tricarboxylic acid cycle acids and other related substances in cultured mammalian cells by gradient ion-exchange chromatography with suppressed conductivity detection. // J. Chromatogr. A. - 2003. - Vol. 1012, № 2. - P.161-168.
13. *Misthos P., Sepsas E., Athanassiadi K. et al.* Skip metastases: analysis of their clinical significance and prognosis in the IIIA stage of non-small cell lung cancer. // Eur. J. Cardiothorac. Surg. - 2004. - Vol. 25, № 4. - P.502-508.
14. *Nomori H., Watanabe K., Ohtsuka T. et al.* The size of metastatic foci and lymph nodes yielding false-negative and false-positive lymph node staging with positron emission tomography in patients with lung cancer. // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. - 2004. - Vol. 127, № 4. - P.1087-1092.
15. *Sharma S., Stolina M., Lin Y. et al.* T cell-derived il-10 promotes lung cancer growth by suppressing both t cell and apc function1. // The Journal of Immunology. - 1999. - Vol. 163. - P.5020-5028.
16. *Somasundaram R., Jacob L., Swoboda R. et al.* Inhibition of cytolytic t lymphocyte proliferation by autologous $CD4^+$/$CD25^+$ regulatory t cells in a colorectal carcinoma patient is mediated by transforming growth factor-Я. // Cancer Research. - 2002. - Vol. 62. - P.5267–5272.
17. *Takahashi K., Kenji A., Norihiro T. Et al.* Morphological interactions of interdigitating dendritic cells with B and T cells in human mesenteric lymph nodes. // Am. J. Pathol. - 2001. - Vol. 159, № 1. - P.131-138.

© СКВОРЦОВ М.Б., КОЖЕВНИКОВ М.А., БОРИЧЕВСКИЙ В.И. –

ПЛАСТИКА ПИЩЕВОДА ЖЕЛУДКОМ У ДЕТЕЙ С РУБЦОВЫМИ СТРИКТУРАМИ И ЕЕ КЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА

М.Б.Скворцов, М.А.Кожевников, В.И.Боричевский

(Иркутский государственный медицинский университет, ректор – д.б.н., проф. А.А.Майборода; кафедра госпитальной хирургии, зав. каф. – д.м.н., проф. Е.Г.Григорьев)

Резюме. Представлен опыт работы клиники госпитальной хирургии ИГМУ в лечении более 1470 больных с рубцовыми сужениями пищевода, среди них было 240 больных, заболевших в детском возрасте, 75 из которых (33,1%) оперированы: у 36 – выполнена пластика пищевода желудочным трансплантатом, операция завершена – у 35. Осложнения возникли в раннем послеоперационном периоде у 9 (27,3%) больных, умерли – 2 (5,5%). Отдаленные результаты отслежены у 28. Отмечено более высокое качество жизни у больных после пластики желудком по сравнению с дооперационным периодом.

Ключевые слова. Дети, рубцовые сужения пищевода, пластика пищевода желудком, клинические результаты.

Основным методом лечения рубцовых послеожоговых стриктур пищевода (РСП) у детей является бужирование. Больным со стриктурами, не поддающимися длительному консервативному лечению и со стриктурами, осложнившимися во время бужирования кровотечением или перфорацией пищевода требуется хирургическое лечение [1,7–12]. Оно также показано больным с протяженными стриктурами и со сформированными пептическими стриктурами дистального отдела пищевода в результате хронического рефлюкс-эзофагита [8].

Вопрос о выборе способа хирургической операции при РСП у детей решается неоднозначно, нет единого мнения о наиболее оптимальном способе создания искусственного пищевода [1,2–10]. Тонкокишечная пластика пищевода в настоящее время применяется редко из-за неблагоприятных особенностей строения ее сосудов и используется чаще всего при повторных пластиках или при невозможности использовать толстую кишку или желудок в качестве трансплантата. Многие хирурги предпочитают толстокишечную пластику пищевода из правой или левой половины толстой кишки в анти- или изоперистальтической позиции с проведением трансплантата на шею через переднее или заднее средостение. Ряд хирургов считают, что трансплантат даже из левой половины толстой кишки является вполне подходящим для пластики пищевода, несмотря на то, что он, как правило, располагается в антиперистальтической позиции [2,4–6]. Авторами указываются и недостатки толстокишечной пластики. Это частая двухэтапность, трудности выкраивания кишечного трансплантата, зависящие от строения сосудов толстой кишки, выключение значительного участка ее из пищеварения. Антиперистальтическое положение кишки-трансплантата в ряде случаев осложняет послеоперационный период несостоятельностью швов пищеводно-толстокишечного анастомоза на шее вследствие рефлюкса [2,4–6]. Функциональные результаты антиперистальтической толстокишечной пластики тоже не всегда вызывают удовлетворенность. Неудобство для больных создает и необходимость выполнения гастростомы для питания на период лечения. В 1960 году впервые в нашей стране Э.А.Степановым была успешно выполнена загрудинная двухэтапная толстокишечная пластика пищевода у ребенка с послеожоговой стриктурой [4]. С этого момента по настоящее время пластика пищевода толстой кишкой при РСП у детей считается более предпочтительной [2,4–6]. За этот период техника операции толстокишечной пластики пищевода совершенствовалась и стала, как правило, одномоментной [6].

Пластика пищевода трансплантатом из желудка у детей выполняется редко. Большим опытом в этом вопросе обладают клиники, выполняющие реконструктивно-восстановительные операции па пищеводе у взрос-