

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

¹ Institute for Medical Problems of the North, Siberian Branch Russian Academy of Medical Sciences

² Krasnoyarsk State Medical Academy

ABSTRACT

With the purpose of studying a state of immune system and a 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 adenocarcinoma 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 having. The most sever 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.

Key words: non-small cell lung cancer, metastasis, immune system, lymphatic nodules, healthy lung tissue, tumor lung tissue, enzymes activity, aerobic and anaerobic processes, plastic processes.

A. A. Савченко¹, П. В. Ланешин², Ю. А. Дыхно²

СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ И МЕТАБОЛИЗМ ЗДОРОВЫХ И ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ У БОЛЬНЫХ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО В ЗАВИСИМОСТИ ОТ МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ

¹ ГУ НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН

² Красноярская государственная медицинская академия

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 (ПКР) легкого и аденокарциномой. Установлено, что характерной особенностью при метастазировании, не зависящей от гистологической структуры рака, является снижение уровней концентраций иммунорегуляторных фракций Т-лимфоцитов и повышение содержания НК-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, активность ферментов, анаэробные и аэробные процессы, пластические процессы.

ВВЕДЕНИЕ

Доказано, что от гистологической структуры немелкоклеточного рака легких зависит скорость роста опухоли и переход на стадию метастазирования [14; 15]. На сегодняшний день установлено, что рост опухоли сопровождается развитием иммунологической недостаточности [4; 5; 9; 17], причем механизмы, определяющие иммунодефицит, до сих пор не определены. Между тем ряд исследователей считают, что раковые клетки за счет широкого спектра механизмов влияют на созревание и селекцию иммунокомпетентных клеток [2; 8; 16]. В связи с этим можно предположить, что интенсивность метаболических процессов, обуславливающих 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 от особенностей 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.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

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 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 того же возраста.

Лимфоциты из лимфоузлов выделяли по методу С. Хант [3]. Выделение общей фракции лимфоцитов крови 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 иммунофлюоресценции 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 А, М, G в сыворотке крови определяли методом иммунодиффузии по Манчини. Состояние гуморального иммунитета характеризовали также уровнем относительного синтеза IgA

(IgA/CD72⁺), IgM (IgM/CD72⁺) и IgG (IgG/CD72⁺). Определение активности НАДФ-зависимых дегидрогеназ в клетках здоровой и опухолевой ткани легкого проводили биOLUMИнесцентным методом [6]. Данным методом определялась активность следующих ферментов: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ, КФ 1.1.1.49), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (ГЗФДГ, 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 (М) 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 — 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 табл. 1. Обнаружено, что наиболее выраженные изменения в состоянии клеточного звена иммунной системы выявляются у больных ПКР N₂. Только в данной группе больных снижена абсолютная концентрация общих лимфоцитов и CD3⁺-клеток и относительное содержание CD8⁺-лимфоцитов (причем относительно как 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 выявляется статистически достоверное повышение абсолютного уровня CD72⁺-лимфоцитов. Кро-

ме того, у больных ПКР N_0 и аденокарциномой N_0 обнаружено повышение абсолютного содержания HLA-DR⁺-лимфоцитов. При этом рост величины данного показателя у больных ПКР N_0 проявляется и относительно значений, выявленных у больных ПКР N_2 . У больных аденокарциномой N_0 снижена относительная концентрация CD16⁺-лимфоцитов, в то время как у больных аденокарциномой N_2 относительно контрольного диапазона и значений, обнаруженных у больных аденокарциномой N_0 , повышена абсолютная концентрация CD16⁺-клеток.

Таблица 1

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

Показатель	Контроль (n=106)	ПКР		Аденокарцинома	
		N_2 (n=24)	N_2 (n=25)	N_0 (n=21)	N_2 (n=11)
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	6,35 $\pm$ 0,16	7,01 $\pm$ 0,65	7,27 $\pm$ 0,62 $p_1 < 0,05$	7,31 $\pm$ 0,14 $p_1 < 0,01$	7,63 $\pm$ 0,78 $p_1 < 0,05$
Лимфоциты, %	38,6 $\pm$ 0,7	35,1 $\pm$ 2,1	28,5 $\pm$ 2,4 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$	28,1 $\pm$ 1,4 $p_1 < 0,001$	24,6 $\pm$ 2,8 $p_1 < 0,001$
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	2,27 $\pm$ 0,06	2,28 $\pm$ 0,16	1,83 $\pm$ 0,10 $p_{1,2} < 0,05$	2,00 $\pm$ 0,10	2,16 $\pm$ 0,37
CD3 ⁺ , %	66,6 $\pm$ 0,6	55,6 $\pm$ 2,7 $p_1 < 0,001$	55,7 $\pm$ 3,1 $p_1 < 0,001$	59,9 $\pm$ 2,6 $p_1 < 0,01$	56,2 $\pm$ 3,5 $p_1 < 0,01$
CD3 ⁺ , $\times 10^9/\text{л}$	1,48 $\pm$ 0,05	1,37 $\pm$ 0,10	0,98 $\pm$ 0,09 $p_{1,2} < 0,001$	1,29 $\pm$ 0,10	1,19 $\pm$ 0,25
CD4 ⁺ , %	41,4 $\pm$ 0,8	31,3 $\pm$ 2,4 $p_1 < 0,001$	31,4 $\pm$ 2,2 $p_1 < 0,001$	33,8 $\pm$ 1,8 $p_1 < 0,001$	29,5 $\pm$ 3,1 $p_1 < 0,001$
CD4 ⁺ , $10^9/\text{л}$	0,93 $\pm$ 0,03	0,75 $\pm$ 0,07	0,61 $\pm$ 0,06 $p_1 < 0,01$	0,74 $\pm$ 0,06	0,51 $\pm$ 0,09 $p_1 < 0,01$ $p_4 < 0,05$
CD8 ⁺ , %	26,6 $\pm$ 0,7	28,7 $\pm$ 1,5	23,5 $\pm$ 1,3 $p_{1,2} < 0,05$	29,4 $\pm$ 1,7	27,1 $\pm$ 2,1
CD8 ⁺ , $\times 10^9/\text{л}$	0,62 $\pm$ 0,02	0,54 $\pm$ 0,05	0,40 $\pm$ 0,04 $p_{1,2} < 0,05$	0,65 $\pm$ 0,05	0,47 $\pm$ 0,07 $p_4 < 0,05$
CD16 ⁺ , %	19,7 $\pm$ 0,5	21,8 $\pm$ 1,9	26,1 $\pm$ 1,4 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$	17,6 $\pm$ 1,2 $p_{1,2} < 0,05$	25,9 $\pm$ 3,6 $p_{1,4} < 0,01$
CD16 ⁺ , $\times 10^9/\text{л}$	0,47 $\pm$ 0,02	0,52 $\pm$ 0,05	0,44 $\pm$ 0,04	0,41 $\pm$ 0,04	0,61 $\pm$ 0,12 $p_{1,4} < 0,05$
CD72 ⁺ , %	12,5 $\pm$ 0,4	18,1 $\pm$ 2,1 $p_1 < 0,01$	16,6 $\pm$ 1,7 $p_1 < 0,01$	18,2 $\pm$ 1,4 $p_1 < 0,001$	19,2 $\pm$ 1,5 $p_1 < 0,001$
CD72 ⁺ , $\times 10^9/\text{л}$	0,28 $\pm$ 0,01	0,32 $\pm$ 0,04	0,34 $\pm$ 0,05 $p_1 < 0,001$	0,41 $\pm$ 0,04 $p_1 < 0,001$	0,33 $\pm$ 0,06
HLA-DR ⁺ , %	16,0 $\pm$ 0,5	24,4 $\pm$ 1,8 $p_1 < 0,001$	20,8 $\pm$ 1,4 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$	23,0 $\pm$ 2,0 $p_1 < 0,001$	23,6 $\pm$ 1,5 $p_1 < 0,001$
HLA-DR ⁺ , $\times 10^9/\text{л}$	0,37 $\pm$ 0,02	0,53 $\pm$ 0,05 $p_1 < 0,01$	0,38 $\pm$ 0,04 $p_2 < 0,05$	0,50 $\pm$ 0,04 $p_1 < 0,01$	0,49 $\pm$ 0,08
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,49 $\pm$ 0,04	1,07 $\pm$ 0,11 $p_1 < 0,01$	1,21 $\pm$ 0,08 $p_1 < 0,05$	1,18 $\pm$ 0,08 $p_1 < 0,01$	1,13 $\pm$ 0,14 $p_1 < 0,05$
HLA-DR ⁺ /CD72 ⁺	1,20 $\pm$ 0,04	1,58 $\pm$ 0,32 $p_1 < 0,05$	1,14 $\pm$ 0,07	1,36 $\pm$ 0,20	1,37 $\pm$ 0,18

Примечание: p_1 — статистически достоверные различия относительно показателей контрольной группы; p_2 — относительно показателей больных ПКР N_0 ; p_4 — относительно показателей больных аденокарциномой N_0 .

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 N_2 статистически достоверно ниже также и относительно показателей больных аденокарциномой N_0 . Кроме того, у больных ПКР N_2 уровень концентрации CD8⁺-клеток также был ниже, чем в группе больных с ПКР N_0 . Общей особенностью иммунного статуса у всех групп больных немелкоклеточным раком 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 гистологии и метастазирования (табл. 2). Так, у всех больных немелкоклеточным раком легкого снижается уровень относительного синтеза IgA и концентрация ЦИК в сыворотке крови. Также независимо от гистологии и метастазирования у больных раком легкого повышается сывороточная концентрация IgA и снижается уровень относительного синтеза IgG. Однако у больных ПКР N_2 повышение сывороточной концентрации IgA относительного контрольного диапазона менее выражено, чем у больных ПКР N_0 , тогда как у больных аденокарциномой N_2 выявляется менее выраженное снижение уровня относительного синтеза IgG. У боль-

Таблица 2

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

Показатель	Контроль (n=106)	ПКР		Аденокарцинома	
		N_0 (n=24)	N_2 (n=25)	N_0 (n=21)	N_2 (n=11)
IgA, г/л	2,23 $\pm$ 0,08	3,84 $\pm$ 0,34 $p_1 < 0,001$	3,03 $\pm$ 0,21 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$	3,64 $\pm$ 0,40 $p_1 < 0,001$	4,61 $\pm$ 0,61 $p_1 < 0,001$
IgM, г/л	1,20 $\pm$ 0,06	1,98 $\pm$ 0,18 $p_1 < 0,001$	1,01 $\pm$ 0,13 $p_2 < 0,001$	1,95 $\pm$ 0,21 $p_1 < 0,001$	1,82 $\pm$ 0,22 $p_1 < 0,01$
IgG, г/л	10,93 $\pm$ 0,32	7,89 $\pm$ 0,71 $p_1 < 0,01$	8,05 $\pm$ 0,61 $p_1 < 0,01$	6,96 $\pm$ 0,94 $p_1 < 0,001$	11,58 $\pm$ 1,89 $p_4 < 0,05$
IgA/CD72 ⁺ , мг/клетка	8,65 $\pm$ 0,71	3,95 $\pm$ 0,50 $p_1 < 0,01$	3,87 $\pm$ 0,44 $p_1 < 0,001$	3,12 $\pm$ 0,36 $p_1 < 0,001$	4,10 $\pm$ 0,62 $p_1 < 0,05$
IgM/CD72 ⁺ , мг/клетка	7,43 $\pm$ 0,78	4,28 $\pm$ 0,89	1,28 $\pm$ 0,13 $p_{1,2} < 0,001$	1,98 $\pm$ 0,24 $p_1 < 0,01$	1,65 $\pm$ 0,22 $p_1 < 0,01$
IgG/CD72 ⁺ , мг/клетка	39,90 $\pm$ 2,31	10,30 $\pm$ 1,92 $p_1 < 0,001$	8,84 $\pm$ 1,06 $p_1 < 0,001$	6,71 $\pm$ 1,15 $p_1 < 0,001$	10,66 $\pm$ 1,74 $p_1 < 0,001$ $p_4 < 0,05$
ЦИК, о. е.	47,16 $\pm$ 2,92	7,90 $\pm$ 1,06 $p_1 < 0,001$	5,98 $\pm$ 1,26 $p_1 < 0,001$	6,09 $\pm$ 1,20 $p_1 < 0,001$	13,24 $\pm$ 6,65 $p_1 < 0,01$

Примечание: p_1 — статистически достоверные различия относительно показателей контрольной группы; p_2 — относительно показателей больных ПКР N_0 ; p_3 — относительно показателей больных ПКР N_2 ; p_4 — относительно показателей больных аденокарциномой N_0 .

ных ПКР N_0 и аденокарциномой N_0 и N_2 повышается содержание IgM в сыворотке крови относительно контрольного диапазона, но у больных ПКР N_0 увеличение концентрации данного класса иммуноглобулина проявляется и относительно значений, выявленных у больных ПКР N_2 . Независимо от метастазирования снижается концентрация IgG у больных ПКР и уровень относительного синтеза IgM у больных аденокарциномой. В то же время у больных аденокарциномой N_0 содержание IgG снижается относительно как контрольного диапазона, так и значений показателя у больных аденокарциномой N_0 , тогда как у больных ПКР N_2 уровень относительного синтеза IgM снижается и относительно контрольного диапазона, и относительно показателей, выявленных у больных ПКР N_0 .

При исследовании фенотипического состава иммунокомпетентных клеток в лимфоузлах корня легкого у больных немелкоклеточным раком легкого в зависимости от гистологии и метастазирования обнаружено, что у больных ПКР N_2 относительно показателей группы больных ПКР N_0 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 N_0 также обнаружено сниженное процентное содержание CD72⁺-лимфоцитов относительно показателей больных ПКР N_0 , а также снижение концентрации HLA-DR⁺-клеток и величины индекса активации Т-лимфоцитов. Характерных особенностей фенотипического состава лимфоцитов в лимфоузлах у больных аденокарциномой N_2 не выявлено.

Анализ исследуемых иммунологических показателей позволяет обнаружить у больных немелкоклеточ-

ным раком легкого выраженные нарушения в системе как клеточного, так и гуморального иммунитета. Так, независимо от гистологии немелкоклеточного рака и метастазирования у больных выявляется 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 периферической крови также обнаружено повышение концентрации лимфоидных клеток с маркером HLA-DR. Данный маркер экспрессируется на активированных Т-лимфоцитах и на всех В-лимфоцитах [12; 18]. Для того, чтобы охарактеризовать пул именно активированных Т-лимфоцитов, нами вычислялся индекс активации Т-лимфоцитов, который оказался повышенным только у больных ПКР N_0 , причем повышение величины данного параметра является единственным специфическим изменением иммунного статуса у больных ПКР N_0 .

В то же время у больных ПКР N_2 выявляется 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 N_2 является снижение содержания иммунорегуляторных фракций Т-лимфоцитов и повышение концентрации NK-клеток относительно больных аденокарциномой N_0 , причем повышение содержания NK-клеток можно рассматривать как компенсаторную реакцию организма.

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 особенностей фенотипического состава иммунокомпетентных клеток в лимфоузлах у больных немелкоклеточным раком легкого обнаружено, что наиболее выраженные изменения выявляются у больных ПКР N_2 , которые проявляются в повышении концентрации В-лимфоцитов, но при снижении иммунорегуляторного индекса и индекса активации Т-лимфоцитов относительно больных ПКР N_0 . Кроме того, установлено, что у больных аденокарциномой N_0 относительно больных ПКР N_0 также повышена концентрация В-лимфоцитов и снижена величина индекса активации Т-лимфоцитов.

С помощью корреляционного анализа мы исследовали взаимосвязь между популяционным и субпопуля-

Таблица 3

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

Показатель	ПКР		Аденокарцинома	
	N_0 (n=7)	N_2 (n=14)	N_0 (n=8)	N_2 (n=6)
CD 3 ⁺ , %	49,3±6,6	51,2±3,3	41,2±3,8	48,7±5,2
CD 4 ⁺ , %	29,1±5,3	25,1±3,1	23,4±2,8	27,5±4,8
CD 8 ⁺ , %	18,9±5,4	22,5±1,5	18,0±3,2	21,8±2,1
CD 16 ⁺ , %	26,3±5,8	30,1±3,8	31,0±1,2	30,7±3,5
CD 72 ⁺ , %	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
CD 4 ⁺ /CD 8 ⁺	2,21±1,14	1,01±0,12 $p_1 < 0,05$	1,15±0,23	1,33±0,29
HLA-DR ⁺ /CD 72 ⁺	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: p_1 — статистически достоверные различия относительно показателей больных ПКР N_0 .

ционным составом лимфоцитов крови и лимфоузлов у больных немелкоклеточным раком легкого. Установлено, что у больных ПКР N_0 и N_2 положительно взаимосвязаны уровни относительной концентрации Т-хелперов/индукторов крови и лимфоузлов ($r=0,90$ и $r=0,60$ соответственно; $p<0,05$). В то же время у больных аденокарциномой N_2 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 лимфоузлами средостения.

При исследовании метаболизма клеток здоровой ткани легкого у больных немелкоклеточным раком легкого обнаружено, что активность Г6ФДГ повышена у больных ПКР N_2 относительно значений больных ПКР N_2 и у больных аденокарциномой относительно показателей больных ПКР N_2 и аденокарциномой N_0 (рис. 1, А). Аналогичным образом в клетках здоровой ткани легкого у больных ПКР N_2 и аденокарциномой N_2 изменяется активность ЛДГ и НАДФ-ГДГ (соответственно рис. 1, Б и Г). У больных ПКР N_2 и аденокарциномой N_2 активность НАДФМДГ также изменяется аналогичным образом, но при этом выявляется снижение уровня активности данного фермента у больных аденокарциномой N_0 относительно значений, обнаруженных в клетках здоровой ткани легкого у больных ПКР N_0 (рис. 1, В). В клетках здоровой ткани легкого у больных аденокарциномой N_2 повышается активность НАД-ГДГ (рис. 1, Д) и НАД-ИЦДГ (рис. 1, Е) относительно значений фермента у больных ПКР N_2 и аденокарциномой N_0 . Кроме того, установлено, что у больных аденокарциномой N_2 относительно больных аденокарциномой N_0 повышена активность НАДФ-ИЦДГ (соответственно $249,12\pm64,58$ и $11,73\pm4,96$ мкЕ/мг белка; $p<0,01$), МДГ ($236,15\pm70,12$ и $27,18\pm9,55$ мкЕ/мг белка; $p<0,01$), анаэробной реакции ЛДГ ($234,23\pm65,56$ и $56,01\pm18,54$ мкЕ/мг белка; $p<0,01$) и ГР ($309,13\pm100,58$ и $109,60\pm44,59$ мкЕ/мг белка; $p<0,05$). У больных ПКР N_2 относительно значений у больных ПКР N_0 в клетках здоровой ткани легкого повышена активность Г3ФДГ ($124,89\pm21,15$ и $25,05\pm7,56$ мкЕ/мг белка; $p<0,05$) и снижен уровень НАДН-зависимой реакции МДГ ($21,04\pm7,33$ и $2132,12\pm521,45$ мкЕ/мг белка; $p<0,001$). У больных аденокарциномой N_2 относительно показателей больных аденокарциномой N_0 повышены уровни активность Г3ФДГ ($436,19\pm149,10$ и $19,88\pm6,14$ мкЕ/мг белка; $p<0,01$) и НАДН-зависимой реакции МДГ ($3678,25\pm1264,47$ и $674,45\pm272,41$ 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; 10].

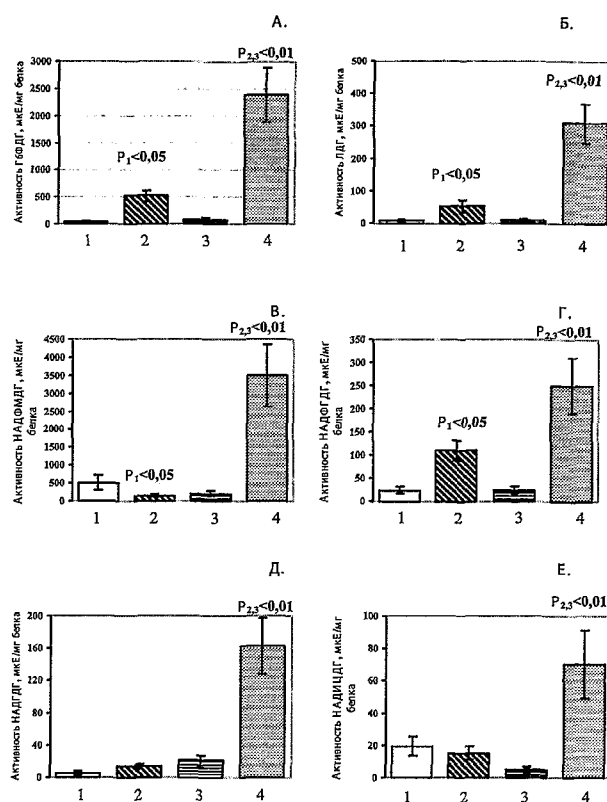


Рис. 1. Активность НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в клетках здоровой ткани легкого у больных ПКР и аденокарциномой в зависимости от метастазирования:

1 — ПКР N_0 ; 2 — ПКР N_2 ; 3 — аденокарцинома N_0 ; 4 — аденокарцинома N_2

При этом у больных ПКР и аденокарциномой с выявленными в лимфоузлах метастазами активность данного фермента повышена. Поскольку в клетках здоровой ткани легкого у больных ПКР N_2 и аденокарциномой N_2 повышена активность малак-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 N_2 и отражает активацию данной антиоксидантной системы.

МДГ и НАДИЦДГ являются ферментами цикла трикарбоновых кислот, функция которого направлена на интеграцию энергетических и обменных реакций [11; 13]. При этом НАДГДГ и НАДФГДГ, осуществляя перенос субстратов на цикл Кребса с реакцией аминокислотного обмена, дополнительно стимулируют аэробные процессы.

В целом при метастазировании в лимфоузлы метаболиты клеток здоровой ткани легкого активированы.

Однако в зависимости от гистологии немелкоклеточного рака выявляется одна характерная особенность. Так, у больных ПКР N_2 снижается активность НАДН-зависимой реакции МДГ (ключевой реакции малат-аспартатного шунта митохондрий) относительно значений при ПКР N_0 , тогда как у больных аденокарциномой N_2 активность реакции повышена относительно показателей больных аденокарциномой N_0 . Функция малат-аспартатного шунта направлена на поддержание водородного градиента митохондрий и соответственно во многом определяет интенсивность метаболических процессов в митохондриях [1; 7].

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 у больных ПКР N_2 по сравнению с показателями больных ПКР N_0 повышена активность ГбФДГ, ЛДГ и НАДФГДГ, но при снижении уровней НАДГДГ и НАДИЦДГ (рис. 2). У больных аденокарциномой легкого N_0 относительно показателей больных ПКР N_0 повышена активность ГбФДГ (рис. 2, А). В то же время в клетках опухолевой ткани легкого у больных аденокарциномой N_2 относительно значений, выявленных у больных аденокарциномой N_0 и ПКР N_2 , повышена активность ЛДГ (рис. 2, Б), НАДФМДГ (рис. 2, В), НАДГДГ (рис. 2, Д) и НАДИЦДГ (рис. 2, Е). Только относительно больных аденокарциномой N_0 у больных аденокарциномой N_2 выявляется повышение активности НАДФГДГ (рис. 2, Г). Уровни активности остальных исследуемых дегидрогеназ в клетках опухолевой ткани легкого у больных немелкоклеточным раком легкого не имеют характерных особенностей в зависимости от гистологии 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 выявляется у больных аденокарциномой N_2 .

Таким образом, при исследовании особенностей иммунного статуса крови у больных немелкоклеточным раком легкого обнаружено, что характерной особенностью при метастазировании, не зависящей от гистологической структуры рака, являются снижение уровней концентрации иммунорегуляторных фракций Т-лимфоцитов и повышение содержания NK-клеток в периферической крови, причем повышение уровня NK-клеток определяется, по-видимому, компенсаторными процессами. В то же время только у больных ПКР N_0 на фоне увеличения концентрации В-лимфоцитов в крови повышается пул активированных Т-лимфоцитов, тогда как у больных ПКР N_2 и при аденокарциноме повышение концентрации HLA-DR⁺-клеток совпадает с увеличением содержания В-лимфоцитов.

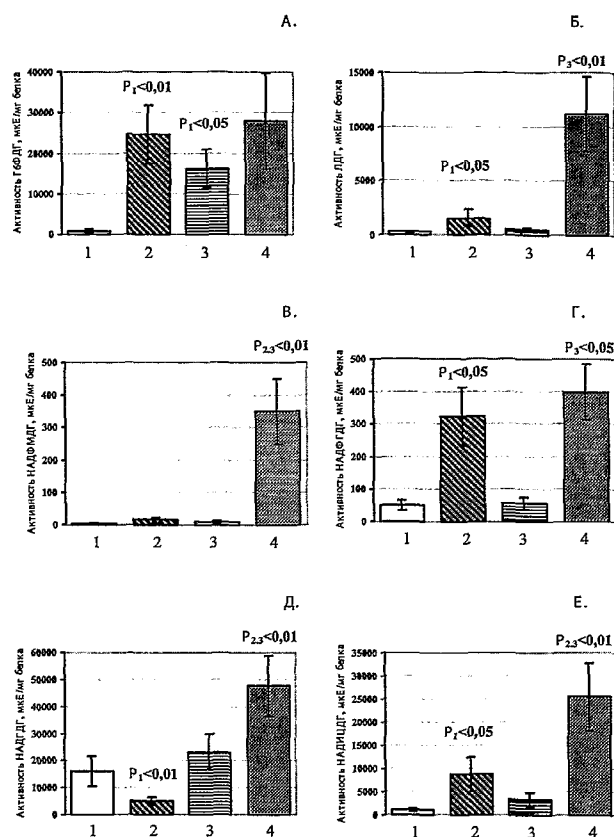


Рис. 2. Активность НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в клетках опухолевой ткани легкого у больных ПКР и аденокарциномой в зависимости от метастазирования:

1 — ПКР N_0 ; 2 — ПКР N_2 ; 3 — аденокарцинома N_0 ; 4 — аденокарцинома N_2

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 N_2 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 сделать заключение об иммунной недостаточности по Т-клеточному типу, которое наиболее выражено у больных с метастазами в лимфоузлах, причем у больных аденокарциномой N_2 иммунная недостаточность проявляется также в виде конкурентных взаимосвязей 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 гистологии 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. Данная активация более характерна для больных аденокарциномой. Следовательно, у больных немелкоклеточным раком легкого состояние иммунной системы и метаболизм здоровой и опухолевой ткани легкого имеют выраженные особенности в зависимости от метастазирования в лимфоузлы и в меньшей степени зависят от гистологической структуры рака.

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. Лимфоциты: Методы: Пер. с англ. / Под ред. Дж. Клауса. — М.: Мир, 1990. — 395 с.
4. 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.
5. Олейник Е. К., Олейник В. М., Бахлаев И. Е., Агеев А. И. Изучение фенотипа лимфоцитов периферической крови у больных раком легкого // Вопросы онкологии. — 2001. — Т. 47, № 4. — С. 436–439.
6. Савченко А. А., Сунцова Л. И. Высокочувствительное определение активности дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови биolumинесцентным методом // Лаб. Дело. — 1989. — № 11. — С. 23–25.
7. 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, No. 1. — P. 15–19.
8. 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.
9. 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.
10. 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, No. 3. — P. 258–263.
11. 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, No. 3. — P. 999–1004.
12. Foukas P. G., Tsilivakos V., Zacharatos P. et al. Expression of HLA-DR is reduced in tumor infiltrating immune cells (TICs) and regional lymph nodes of non-small-cell lung carcinomas. A putative mechanism of tumor-induced immunosuppression? // Anticancer Res. — 2001. — Vol. 21, No. 4A. — P. 2609–2615.
13. 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, No. 2. — P. 161–168.
14. 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, No. 4. — P. 502–508.
15. 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, No. 4. — P. 1087–1092.
16. Sharma S., Stolina M., Lin Y. et al. T-cell-derived IL-10 promotes lung cancer growth by suppressing both T-cell and APC function 1 // J. Immunol. — 1999. — Vol. 163. — P. 5020–5028.
17. 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- β // Cancer Research. — 2002. — Vol. 62. — P. 5267–5272.
18. 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, No. 1. — P. 131–138.