Медицинская иммунология
2018, Т. 20, № 3, стр. 391-400
© 2018, СПб РО РААКИ

Оригинальные статьи
Original articles

Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya
2018, Vol. 20, № 3, pp. 391-400
© 2018, SPb RAACI

ФЕРМЕНТНЫЙ СПЕКТР ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ДО И ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ

Куртасова Л.М.[1], Савченко А.А.[1, 2], Зуков Р.А.[1], Толмачева Т.В.[1]

[1] ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия
[2] ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“», обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера», г. Красноярск, Россия

Резюме. Целью исследования явилось изучение показателей активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов периферической крови у больных почечно-клеточным раком (ПКР) в период до операции и в динамике через 14 и 30 дней после хирургического лечения. Обследованы пациенты в возрасте 45-55 лет с местно-распространенным ПКР в период до хирургического лечения, через 14 и 30 дней после оперативного вмешательства. Контрольную группу составили здоровые доноры аналогичного возрастного диапазона. Активность НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ определяли с помощью биолюминесцентного метода с применением биферментного комплекса, выделенного из люминесцирующих бактерий. Установлены изменения ферментного профиля лимфоцитов периферической крови у больных ПКР в до и послеоперационном периоде. Метаболизм лимфоцитов у больных ПКР в дооперационном периоде характеризуется сниженной активностью пентозофосфатного цикла и глутатион-зависимой антиоксидантной системы. Изменение активности данных процессов может привести к снижению уровня реакций макромолекулярного синтеза в лимфоцитах и активации перекисных реакций. Обнаружено снижение активности анаэробной реакции лактатдегидрогеназы, что характеризует ингибирование терминальных реакций анаэробного гликолиза. Уровни метаболических реакций в лимфоцитах крови у больных ПКР в дооперационном периоде, определяющие интенсивность аэробного дыхания, соответствуют контрольным значениям, но выявляется увеличение интенсивности НАД-зависимого оттока субстратов с цикла трикарбоновых кислот на реакции аминокислотного обмена. В послеоперационном периоде у больных ПКР в лимфоцитах крови сохраняется низкая активность терминальных реакций анаэробного гликолиза, умеренно активируется аэробная реакция лактатдегидрогеназы. В течение всего послеоперационного периода в лимфоцитах крови больных ПКР сохраняется повышенный НАД-зависимый отток субстратов с цикла трикарбоновых кислот на реакции аминокислотного обмена. Тем не менее наблюда-

Адрес для переписки:
Куртасова Людмила Михайловна
ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ
660022, Россия, г. Красноярск,
ул. Партизана Железняка, 1.
Тел.: 8 (391) 220-06-28.
Факс: 8 (391) 221-16-38.
E-mail: sibmed-obozrenie@yandex.ru

Address for correspondence:
Kurtasova Lyudmila M.
Krasnoyarsk State V.F. Voino-Yasenetsky Medical University
660022, Russian Federation, Krasnoyarsk, Partizan Zheleznyak str., 1.
Phone: 7 (391) 220-06-28.
Fax: 7 (391) 221-16-38.
E-mail: sibmed-obozrenie@yandex.ru

Образец цитирования:
Л.М. Куртасова, А.А. Савченко, Р.А. Зуков, Т.В. Толмачева «Ферментный спектр лимфоцитов периферической крови у больных почечно-клеточным раком до и после хирургического лечения» // Медицинская иммунология, 2018. Т. 20, № 3. С. 391-400. doi: 10.15789/1563-0625-2018-3-391-400

© Куртасова Л.М. и соавт., 2018

For citation:
L.M. Kurtasova, A.A. Savchenko, R.A. Zukov, T.V. Tolmacheva “Enzyme profile of peripheral blood lymphocytes in patients with the renal cell carcinoma before and after surgical treatment”, Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2018, Vol. 20, no. 3, pp. 391-400. doi: 10.15789/1563-0625-2018-3-391-400

DOI: 10.15789/1563-0625-2018-3-391-400

ется значительное увеличение интенсивности терминальных реакций цикла Кребса, определяющее повышение активности аэробного дыхания, что является энергетически более выгодным для клеток. В то же время вызванное подобным перераспределением субстратных потоков «обеднение» метаболитами пентозофосфатного цикла в лимфоцитах у больных ПКР приводит к снижению пластических процессов в клетках. Даже через 30 дней после хирургического лечения сохраняется снижение глутатион-зависимой антиоксидантной защиты клеток. Следовательно, больные ПКР в послеоперационном периоде нуждаются в коррекции метаболических процессов в клетках иммунной системы, что необходимо учитывать при разработке реабилитационных программ у данной категории пациентов.

Ключевые слова: почечно-клеточный рак, лечение, лимфоциты, активность ферментов, метаболизм, энергетические процессы, пластический обмен

ENZYME PROFILE OF PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH THE RENAL CELL CARCINOMA BEFORE AND AFTER SURGICAL TREATMENT

Kurtasova L.M.[a], Savchenko A.A.[a, b], Zukov R.A.[a], Tolmacheva T.V.[a]

[a] *Krasnoyarsk State V.F. Voino-Yasenetsky Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation*
[b] *Research Institute of Medical Problems of the North, Siberian Branch, Krasnoyarsk Research Center, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation*

Abstract. The aim of the study was to investigate activities of NAD- and NADP-dependent dehydrogenases in peripheral blood lymphocytes of the patients with renal cell carcinoma (RCC) at the terms before surgery and 14 and 30 days after surgical treatment. The patients at the age of 45-55 years with locally advanced RCC were examined before surgical treatment, 14 and 30 days after surgery. The control group consisted of healthy donors of the same age range. Activity of NAD- and NADP-dependent dehydrogenases was determined by bioluminescence method using bienzyme complex isolated from luminescent bacteria. The enzyme profile changes of peripheral blood lymphocytes in the patients with RCC in pre- and postoperative period have been revealed. The lymphocyte metabolism in patients with RCC at the pre-operative period was characterized by decreased activity of pentose phosphate cycle, and glutathione-dependent antioxidant system. The changes in activity of these processes may lead to decreased levels of macromolecular synthetic reactions in the lymphocytes and activation of peroxide reactions. We have registered a decreased activity of lactate dehydrogenase anaerobic reaction which characterizes inhibition of the terminal anaerobic glycolysis reactions. The levels of metabolic reactions in blood lymphocytes from the RCC patients in preoperative period determining the intensity of aerobic respiration corresponded to control values, along with an increased intensity of the NAD-dependent substrates outflow from the tricarboxylic acid cycle to the amino acid exchange reaction. In the postoperative period in patients with RCC in blood lymphocytes the activity of the terminal reactions of the anaerobic glycolysis hold on, the aerobic lactate dehydrogenase reaction moderately activated. During the entire postoperative period, an increased outflow of NAD-dependent substrates from the tricarboxylic acid cycle to the amino acid exchange reaction is registered in blood lymphocytes of RCC patients. Nevertheless, there is a significant increase in the intensity of the Krebs cycle terminal reactions, which determines an increase in aerobic respiration activity being energetically more beneficial to the cells. At the same time, «impoverishment» of the pentose phosphate cycle metabolites in the lymphocytes of the patients with RCC, due to similar redistribution of the substrate flows, leads to decreased plastic processes in cells. Even 30 days after surgical treatment, a decrease remains in glutathione-dependent antioxidant protection of the cells. Therefore, the patients with RCC need correction of metabolic processes in the immune cells during postoperative period. This fact should be taken into account by developing rehabilitation programs in this category of the patients.

Keywords: renal cell carcinoma, treatment, lymphocytes, enzyme activity, metabolism, energy processes, plastic metabolism

Введение

Почечно-клеточный рак (ПКР) составляет более 90% всех злокачественных новообразований почки. При этом число случаев поздней диагностики рака почти в 3 раза выше, чем при других урологических новообразованиях, а результаты лечения данного заболевания до сих пор остаются неутешительными – у 40-50% больных в течение первого года лечения появляются метастазы [2, 3, 9].

В мире ежегодно диагностируется около 270 тыс. новых случаев ПКР, что соответствует 13-му месту в общей структуре онкологической заболеваемости [9, 20]. При сравнительном анализе территориальных особенностей заболеваемости и смертности от ПКР в Российской Федерации необходимо отметить, что наиболее высокие показатели наблюдаются в Сибирском федеральном округе (показатель заболеваемости составляет 15,45 на 100 тысяч населения, а показатель смертности – 6,59). Красноярский край по показателям заболеваемости ПКР находится на 8-м месте в Сибирском федеральном округе, а по смертности входит в пятерку лидеров [1, 3].

На сегодняшний день не вызывает сомнений участие иммунной системы в противоопухолевой защите [4, 6, 22]. Теория иммунологического надзора определяет наличие в иммунной системе постоянного мониторинга организма для обнаружения злокачественных трансформированных клеток, их элиминации либо подавления роста.

Учитывая, что все модуляторы функциональной активности лимфоцитов – основного структурно-функционального элемента иммунной системы – прежде всего, изменяют метаболизм клетки, переключая субстратные потоки с одного метаболического пути на другой, влияя на энергетические и синтетические процессы, нарушения иммунной системы не могут не иметь метаболической основы [8, 12, 14]. Известны результаты исследований, которые позволяют представить некоторые механизмы, связывающие внутриклеточные процессы в лимфоцитах с их функциональной активностью. Так, в работе Xu Y. et al. (2016) показано, что интенсивность субстратного потока по гликолизу регулирует трансляцию гипоксия-индуцибельного фактора 1α (HIF1α), который осуществляет потенциальный механизм контроля функции лимфоцитов периферической ткани [25]. Обосновывается, что экспрессия переносчика глюкозы (GLUT1) и, соответственно, уровень транспорта глюкозы в клетку является лимитирующим для пролиферации лимфоцитов. Направленность и интенсивность биоэнергетических процессов в клетках иммунной системы в значительной степени определяет функциональную активность клеток [8, 12].

Значимость изменений уровней активности внутриклеточных ферментов для реализации функциональной активности лимфоцитов подтверждается не только результатами экспериментальных исследований, но и клинико-лабораторными данными. Например, у детей с атопическим дерматитом обнаружены нарушения метаболических процессов в лимфоцитах периферической крови, которые зависят от периода, характера течения заболевания [6]. Доказано, что при воспалительных и аутоиммунных заболеваниях метаболизм $CD4^+$ клеток значительно различается [14]. Обнаружено, что при острых лимфобластных лейкозах в лимфоцитах периферической крови значительно снижена интенсивность анаэробного и аэробного дыхания [23]. Выявлена зависимость активности ферментов в лимфоцитах от исхода распространенного гнойного перитонита [8]. Причем сопоставление показателей, характеризующих внутриклеточный метаболизм лимфоцитов с физиологическими параметрами организма, показало, что изменения на клеточном уровне выявляются раньше, чем на организменном.

Целью данного исследования явилось изучение показателей активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов периферической крови у больных ПКР в период до операции и в динамике через 14 и 30 дней после хирургического лечения.

Материалы и методы

На базе онкоурологического отделения Красноярского краевого клинического онкологического диспансера имени А.И. Крыжановского проведено открытое проспективное клиническое исследование. Обследованы пациенты с местнораспространенным почечно-клеточным раком в период до хирургического лечения (101 человек), через 14 (90 человек) и 30 дней (44 человека) после оперативного вмешательства. Критерии включения в исследование: возраст 45-55 лет, морфологически верифицированный ПКР, III стадия заболевания ($T_3N_0M_0$), радикальная нефрэктомия. Критериями исключения явились: тяжелая сопутствующая патология, печеночная и почечная недостаточность, статус пациента по шкале EGOC > 2, опухоль другой локализации, химио- или лучевая терапия, отказ пациента от участия в исследовании. Контрольную группу составили 35 здоровых доноров аналогичного возрастного диапазона.

Выделение общей фракции лимфоцитов осуществляли по общепринятому методу в градиенте плотности фиколл-урографина с последующей очисткой от прилипающих клеток. Для биолюминесцентного анализа использовали

1 млн выделенных лимфоцитов. Клетки разрушали путем осмотического лизиса с добавлением 2,0 мМ дитиотреитола. Затем осуществляли биолюминесцентное определение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (Г3ФДГ), НАД- и НАДН-зависимой реакции лактатдегидрогеназы (ЛДГ и НАДН-ЛДГ соответственно), НАДФ-зависимой декарбоксилирующей малатдегидрогеназы (НАДФМДГ), НАД- и НАДН-зависимой реакции глутаматдегидрогеназы (НАДГДГ и НАДН-ГДГ соответственно), НАДФ- и НАДФН-зависимой реакции глутаматдегидрогеназы (НАДФГДГ и НАДФН-ГДГ соответственно), НАД- и НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназы (НАДИЦДГ и НАДФИЦДГ соответственно), НАД- и НАДФ-зависимой реакции малатдегидрогеназы (МДГ и НАДН-МДГ соответственно) и глутатионредуктазы (ГР). Для этого к 50 мкл инкубационной смеси разрушенных $CD8^+$ лимфоцитов добавляли 150 мкл смеси субстратов и коферментов в концентрациях и pH среды, указанных в используемой нами методике [7]. После инкубации исследуемых проб при 37 °С в течение 30 минут (для ферментативных реакций с восстановлением НАД(Ф)$^+$) или 5 минут (для реакций с окислением НАД(Ф)Н) к 200 мкл инкубационной смеси добавляли 50 мкл флавинмононуклеотида (ФМН, Applichem GMBH, Германия) и 10 мкл ферментативной системы НАД(Ф)Н:ФМНоксидоредуктаза-люцифераза. Биферментный препарат НАД(Ф)Н:ФМНоксидоредуктаза-люцифераза изготовлен из очищенных методом ионообменной хроматографии и гель-фильтрации люциферазы из Photobacterium leiognathi и НАД(Ф)Н:ФМНоксидоредуктазы из Vibrio fischeri в Институте биофизики СО РАН (г. Красноярск) [18]. Все реактивы биолюминесцентной системы разведены в 0,1 М K^+,Na^+-фосфатном буфере (Реахим, Россия) с pH 7,0. Измерение биолюминесценции осуществляли с помощью биохемилюминесцентного анализатора «БЛМ-3607» (г. Красноярск, Россия). Активность исследуемых оксидоредуктаз выражали в ферментативных единицах (1Е = 1 мкмоль/мин) на 10^4 клеток [8].

Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica v. 6.0 (Statsoft Inc., США). Количественные параметры в группах сравнения представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного интеравала ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$), где $Q_{0,25}$ – 25% процентиль, $Q_{0,75}$ – 75% процентиль. Проверку гипотезы о достоверности выборки проводили с помощью критерия Манна–Уитни (Mann–Whitney U-test). Достоверность различий в динамике послеоперационного периода определяли по критерию Вилкоксона (Wilcoxon matched pairs test).

Результаты

Анализ исследуемых НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови у больных ПКР в период до хирургического лечения показал статистически значимое снижение активности Г6ФДГ относительно показателей контрольной группы (рис. 1А). Следует отметить значительное снижение активности НАДН-ЛДГ по сравнению с величинами контрольной группы (рис. 2А). Кроме того, установлено повышение в 3,2 раза уровня активности НАДН-ГДГ (рис. 2Б) и снижение в 6,2 раза активности ГР (рис. 1Б) относительно параметров контроля.

В период через 14 дней после оперативного вмешательства у больных ПКР в лимфоцитах крови показатели активности Г6ФДГ сохраняются пониженными по сравнению с величинами контрольной группы и соответствуют уровню, зарегистрированному в период до хирургического лечения (рис. 1А). Анаэробная реакция ЛДГ по прежнему остается сниженной относительно контрольных показателей, а также по сравнению с величинами, зафиксированными в период до операции (рис. 2А). Сохраняются повышенными показатели активности НАДН-ГДГ относительно контрольных значений (рис. 2Б), и отмечается увеличение уровня активности Г3ФДГ по сравнению с показателями, зарегистрированными в период до хирургического лечения (рис. 3А). По-прежнему наблюдается статистически значимое снижение активности ГР по сравнению с контролем, в то время как уровни активности фермента на период через 14 дней после операции почти в 2 раза превосходят значения, установленные в период до оперативного вмешательства (рис. 1Б). Необходимо отметить статистически значимое увеличение активности ЛДГ относительно показателей группы контроля (рис. 3Б).

Исследование активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови у больных ПКР в период через 30 дней после хирургического лечения позволило

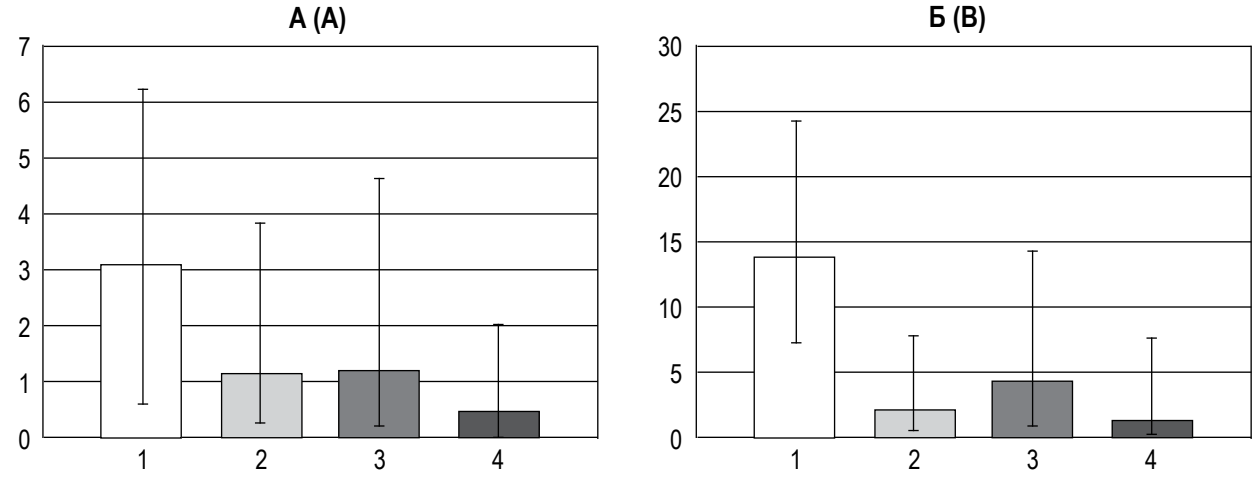

Рисунок 1. Активность Г6ФДГ (А) и ГР (Б) в лимфоцитах крови у больных ПКР до и после операции

Примечание. По оси абсцисс – группы обследованных (1 – группа контроля; 2 – больные ПКР до операции; 3 – через 14 суток после операции; 4 – через 30 суток после операции); по оси ординат – активность фермента (мкЕ); p_1 – статистически значимые различия с контрольными значениями; p_2 – статистически значимые различия с показателями больных ПКР до операции; p_3 – статистически значимые различия с показателями больных ПКР через 14 суток после операции.

Figure 1. Glu6PDH (A) and GR (B) activities in blood lymphocytes from the patients with RCC before and after surgery

Note. Abscissa, groups of examined persons (1, controls; 2, patients with RCC before surgery; 3, 14 days after surgery; 4, 30 days after surgery). Ordinate, enzyme activity (mkU); p_1, statistically significant differences with control values; p_2, difference against appropriate parameters of patients with RCC before the operation; p_3, difference against appropriate parameters of the RCC patients 14 days after the surgery.

Англоязычный список ферментов

Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г6ФДГ) – Glucose-6-phosphate dehydrogenase (Glu6PDH)

Глицерол-3-фосфатдегидрогеназа (Г3ФДГ) – Glycerol-3-phosphate dehydrogenase (Gly3PDH)

Лактатдегидрогеназа, НАД-зависимая реакция (ЛДГ) – Lactate dehydrogenase, NAD-dependent reaction (LDH)

Малатдегидрогеназа, НАД-зависимая реакция (МДГ) – Malate dehydrogenase, NAD-dependent reaction (MDH)

НАДН-зависимая реакция лактатдегидрогеназы (НАДН-ЛДГ) – NADH-dependent reaction of lactate dehydrogenase (NADH-LDH)

Глутатионредуктаза (ГР) – Glutathione reductase (GR)

НАДН-зависимая реакция глутаматдегидрогеназы (НАДН-ГДГ) – NADH-dependent reaction of glutamate dehydrogenase (NADH-GluDH)

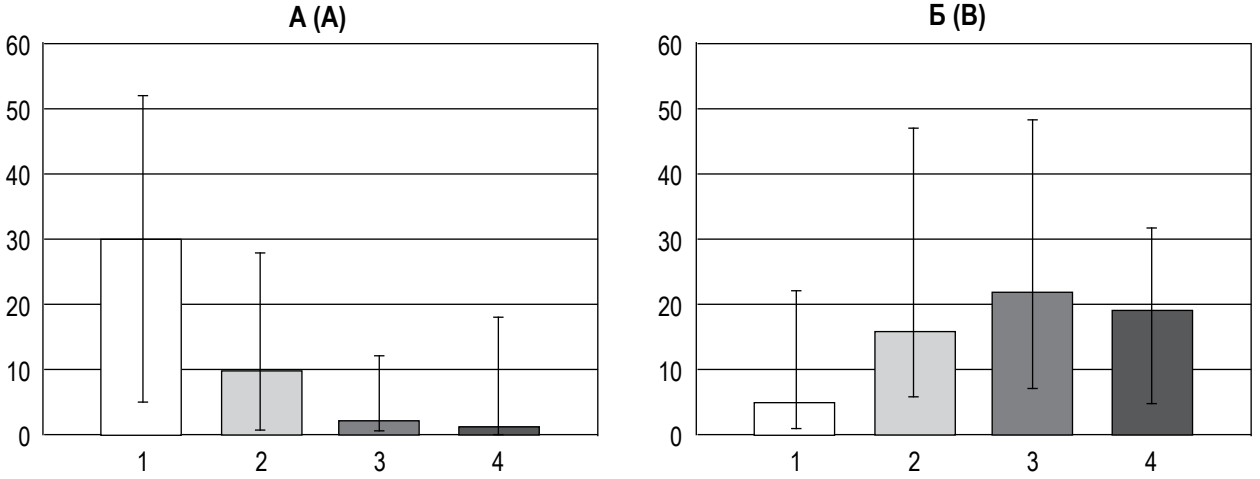

Рисунок 2. Активность НАДН-ЛДГ (А) и НАДН-ГДГ (Б) в лимфоцитах крови у больных ПКР до и после операции

Примечание. См. примечание к рисунку 1.

Figure 2. NADH-LDH (A) and NADH-GluDH (B) activities in blood lymphocytes from the patients with RCC before and after surgery

Note. As for Figure 1.

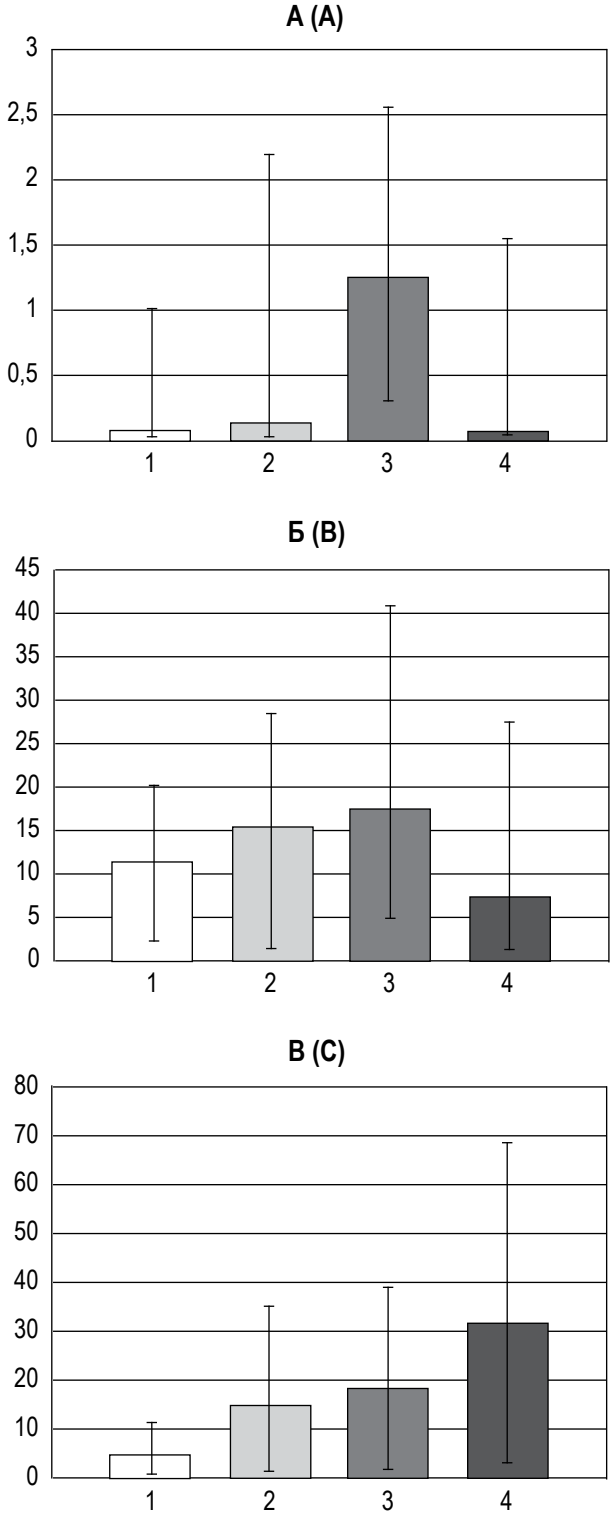

Рисунок 3. Активность Г3ФДГ (А), ЛДГ (Б) и МДГ (В) в лимфоцитах крови у больных ПКР до и после операции

Примечание. См. примечание к рисунку 1.

Figure 3. Gly3PDH (A), LDH (B) and MDH (C) activities in blood lymphocytes from the patients with RCC before and after surgery

Note. As for Figure 1.

установить продолжающееся снижение активности Г6ФДГ по сравнению с контролем, а также снижение в 2,7 раза относительно показателей, зарегистрированных в период через 14 дней после операции (рис. 1А). Кроме того, сохраняются статистически значимо пониженными показатели активности ГР (рис. 1Б), НАДН-ЛДГ (рис. 2А) и повышенными НАДН-ГДГ (рис. 2Б) по сравнению с показателями контрольной группы. Следует отметить, что только в данный период наблюдения в лимфоцитах крови у больных ПКР обнаружено увеличение активности МДГ в 7 раз относительно значений контроля (рис. 3В).

Обсуждение

Известно, что лимфоциты относятся к клеткам, где энергетические процессы определяются активностью как аэробных, так и анаэробных реакций [8, 14, 17]. Активность анаэробной реакции ЛДГ (НАДН-ЛДГ) характеризует интенсивность субстратного потока на терминальной стадии анаэробного гликолиза. Полученные нами данные свидетельствуют о снижении активности НАДН-ЛДГ у больных ПКР как в период до операции, так и во все наблюдаемые периоды после хирургического лечения. Это позволяет предположить понижение интенсивности терминальных реакций анаэробного гликолиза в лимфоцитах периферической крови у больных ПКР. Между тем в исследовании, проведенном Chang C.H. и соавт. (2013), отмечается, что при активации лимфоцитов наблюдается переход от аэробной биоэнергетики к анаэробной [12]. Причем при ингибировании гликолиза Т-лимфоциты не проявляли необходимой пролиферативной активности.

Субстратным конкурентом гликолиза является пентозофосфатный цикл, инициирующую и ключевую реакцию которого катализирует Г6ФДГ [8, 10, 24]. В результате нашего исследования установлено, что активность Г6ФДГ, осуществляющая ключевую и инициирующую реакцию пентозофосфатного цикла, снижена в лимфоцитах периферической крови у больных ПКР в период до оперативного вмешательства и в послеоперационном периоде. Между тем продуктами пентозофосфатного цикла являются рибозо-5-фосфат и НАДФН, которые используются для дальнейшего макромолекулярного синтеза [6, 16].

Компенсировать недостаточность анаэробного гликолиза может перенос продуктов липидного катаболизма через Г3ФДГ на окислительно-восстановительные реакции гликолиза [19, 21]. Однако повышение активности Г3ФДГ в лимфоцитах больных ПКР наблюдается только на 14 сутки после оперативного вмешательства. Также

следует отметить, что при снижении интенсивности гликолиза концентрация пирувата может быть стабилизирована аэробной реакцией ЛДГ, чем, возможно, определяется повышение активности ЛДГ в лимфоцитах периферической крови у больных ПКР в период через 14 дней после хирургического лечения.

Известно, что НАДН- и НАДФН-зависимые реакции глутаматдегидрогеназ определяют уровень оттока интермедиатов с цикла трикарбоновых кислот на метаболические пути аминокислотного обмена [11, 26]. Обнаруженное повышение активности НАДН-зависимой глутаматдегидрогеназы в лимфоцитах крови у больных ПКР в период до и после операции отражает увеличение оттока энергетических интермедиатов на реакции аминокислотного обмена. При этом необходимо подчеркнуть, что активируется именно НАДН-ГДГ, это позволяет предположить повышение НАДН в митохондриальном компартменте клеток.

Характеризуя ферментный профиль лимфоцитов периферической крови у больных ПКР, следует также отметить, что в период через 30 дней после хирургического лечения значительно повышается уровень МДГ, активность которой определяет интенсивность субстратного потока на терминальном этапе цикла Кребса, вносящего наибольший вклад в процессы внутриклеточного энергообразования [5, 6, 15].

Увеличение интенсивности терминальных реакций цикла Кребса отражает повышение активности аэробного дыхания, что является энергетически более выгодным для клетки. В то же время вызванное подобным перераспределением субстратных потоков «обеднение» метаболитами пентозофосфатного цикла у больных ПКР приводит к снижению пластических функций клетки. Кроме того, даже через 30 дней после хирургического лечения сохраняется снижение глутатион-зависимой антиоксидантной защиты клетки.

Обращает на себя внимание факт снижение активности ГР в лимфоцитах крови у больных ПКР как в период до операции, так и в послеоперационном периоде. Данный фермент входит в состав одной из систем антиоксидантной защиты клетки, что может отражать активацию перекисных процессов, играющих важную патофизиологическую роль в онкогенезе [6, 13].

Общей закономерностью изменений энзиматической активности лимфоцитов периферической крови у больных ПКР в период до и после оперативного вмешательства является уменьшение интенсивности терминальных анаэробных реакций гликолиза, ингибирование пластических процессов, зависящих от НАДФН и рибозо-5-фосфата, определяемых реакциями пентозофосфатного цикла, повышением НАДН-зависимого оттока субстратов с цикла Кребса на реакции аминокислотного обмена и снижением глутатион-зависимой антиоксидантной системы клетки. В послеоперационном периоде наблюдается субстратная стимуляция гликолиза продуктами липидного катаболизма, что обычно происходит при необходимости быстрой мобилизации энергии в клетке. Активируется аэробная реакция ЛДГ, повышается интенсивность аэробного клеточного дыхания за счет увеличения активности реакций терминального этапа цикла трикарбоновых кислот.

Следовательно, метаболические процессы в лимфоцитах периферической крови у больных ПКР в послеоперационном периоде направлены в основном на повышение выработки энергетических возможностей, что, вероятно, связано с активацией лимфоцитов в данный период наблюдения.

Заключение

В результате проведенного исследования установлены изменения ферментного профиля лимфоцитов периферической крови у больных ПКР в до и послеоперационном периоде. Метаболизм лимфоцитов у больных ПКР в дооперационном периоде характеризуется сниженной активностью пентозофосфатного цикла, анаэробной реакции ЛДГ и глутатион-зависимой антиоксидантной системы, но при повышенном уровне НАД-зависимого оттока субстратов с цикла трикарбоновых кислот на реакции аминокислотного обмена. В послеоперационном периоде происходит увеличение субстратного питания гликолиза за счет продуктов метаболизма липидов и жирных кислот, умеренно активируется аэробная реакция лактатдегидрогеназы. Значительное увеличение терминальных реакций цикла Кребса отражает повышение активности аэробного дыхания, что является энергетически более выгодным для клеток. В то же время вызванное подобным перераспределением субстратных потоков «обеднение» метаболитами пентозофосфатного цикла у больных ПКР приводит к снижению пластических функций клетки. Даже через 30 дней после хирургического лечения сохраняется снижение глутатион-зависимой антиоксидантной защиты клетки. Следовательно, больные ПКР в послеоперационном периоде нуждаются в коррекции метаболических процессов в клетках иммунной системы, что необходимо учитывать при разработке реабилитационных программ у данной категории пациентов.

Список литературы / References

1. Александрова Л.М., Грецова О.П., Калинина А.М., Петрова Г.В., Старинский В.В., Каприн А.Д., Бойцов С.А. Роль диспансеризации в выявлении рака почки в России // Онкология. Журнал им. П.А. Герцена, 2015. Т. 4, № 5. С. 44-48. [Aleksandrova L.M., Gretsova O.P., Kalinina A.M., Petrova G.V., Starinskiy V.V., Kaprin A.D., Boytsov S.A. Role of prophylactic medical examination in the detection of kidney cancer in Russia. *Onkologiya. Zhurnal im. P.A. Gertsena = Oncology. P.A. Herzen Journal, 2015, Vol. 4, no. 5, pp. 44-48.* (In Russ.)]

2. Вторушин С.В., Тараканова В.О., Завьялова М.В. Молекулярно-биологические факторы прогноза рака почки // Архив патологии, 2016. Т. 78, № 1. С. 56-61. [Vtorushin S.V., Tarakanova V.O., Zavyalova M.V. Molecular biological predictors for kidney cancer. *Arkhiv patologii = Archive of Pathology, 2016, Vol. 78, no. 1, pp. 56-61.* (In Russ.)]

3. Зуков Р.А., Дыхно Ю.А., Модестов А.А., Шкапова Е.А. Почечно-клеточный рак. Новосибирск: Наука, 2015. 244 с. [Zukov R.A., Dykhno Yu.A., Modestov A.A., Shkapova E.A. Renal cell cancer]. Novosibirsk: Science, 2015. 244 p.

4. Кадагидзе З.Г., Черткова А.И., Славина Е.Г., Заботина Е.Н., Борунова А.А., Короткова О.В. Фенотип иммунокомпетентных клеток и его значение в противоопухолевом иммунитете // Вестник РАМН, 2011. № 12. С. 21-25. [Kadagidze Z.G., Chertkova A.I., Slavina E.G., Zabotina E.N., Borunova A.A., Korotkova O.V. Phenotype of immunocompetent cells and its role in antitumour immune response. *Vestnik RAMN = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences, 2011, no. 12, pp. 21-25.* (In Russ.)]

5. Коленчукова О.А., Савченко А.А. Сравнительная характеристика НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови и лимфоидной ткани при хроническом аденоидите // Медицинская иммунология, 2015. Т. 17, № 3. С. 229-234. [Kolenchukova O.A., Savchenko A.A. Comparative characteristics of NAD(P) – dependent dehydrogenases in blood lymphocytes and lymphoid tissue in chronic adenoiditis. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2015, Vol. 17, no. 3, pp. 229-234.* (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2015-3-229-234.

6. Куртасова Л.М., Манчук В.Т., Савченко А.А. Основы метаболической иммунореабилитации детей с атопическим дерматитом. Красноярск: КрасГМА, 2002. 153 с. [Kurtasova L.M., Manchuk V.T., Savchenko A.A. Fundamentals of the metabolic immunorehabilitation of children with atopic dermatitis]. Krasnoyarsk: KrasGMA, 2002. 153 p.

7. Савченко А.А. Определение активности NAD(P)-зависимых дегидрогеназ в нейтрофильных гранулоцитах биолюминесцентным методом // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2015. Т. 159, № 5. С. 656-660. [Savchenko A.A. Evaluation of NAD(P)-dependent dehydrogenase activities in neutrophilic granulocytes by the bioluminescent method. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine, Vol. 159, no. 5, pp. 656-660.* (In Russ.)]

8. Савченко А.А., Здзитовецкий Д.Э., Борисов А.Г. Иммунометаболические нарушения при распространенном гнойном перитоните. Новосибирск: Наука, 2013. 142 с. [Savchenko A.A., Zdzitovetskiy D.E., Borisov A.G. The immune and metabolic disorders by the widespread purulent peritonitis]. Novosibirsk: Science, 2013. 142 p.

9. Basappa N., Pouliot F. New research in kidney cancer, ASCO-GU 2017. *Can. Urol. Assoc. J., 2017, Vol. 11, Suppl. l2, pp. S163-S165.*

10. Boonyuen U., Chamchoy K., Swangsri T., Junkree T., Day N.P.J., White N.J., Imwong M. A trade off between catalytic activity and protein stability determines the clinical manifestations of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency. *Int. J. Biol. Macromol., 2017, Vol. 104, Pt A, pp. 145-156.*

11. Bunik V., Artiukhov A., Aleshin V., Mkrtchyan G. Multiple forms of glutamate dehydrogenase in animals: Structural determinants and physiological implications. *Biology (Basel), 2016, Vol. 5, no. 4, pii: E53.*

12. Chang C.H., Curtis J.D., Maggi L.B. Jr., Faubert B., Villarino A.V., O'Sullivan D., Huang S.C., van der Windt G.J., Blagih J., Qiu J., Weber J.D., Pearce E.J., Jones R.G., Pearce E.L. Posttranscriptional control of T cell effector function by aerobic glycolysis. *Cell, 2013, Vol. 153, no. 6, pp. 1239-1251.*

13. Couto N., Wood J., Barber J. The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homoeostasis network. *Free Radic. Biol. Med., 2016, Vol. 95, pp. 27-42.*

14. Gerriets V.A., Kishton R.J., Nichols A.G., Macintyre A.N., Inoue M., Ilkayeva O., Winter P.S., Liu X., Priyadharshini B., Slawinska M.E., Haeberli L., Huck C., Turka L.A., Wood K.C., Hale L.P., Smith P.A., Schneider M.A., MacIver N.J., Locasale J.W., Newgard C.B., Shinohara M.L., Rathmell J.C. Metabolic programming and PDHK1 control $CD4^+$ T cell subsets and inflammation. *J. Clin. Invest., 2015, Vol. 125, no. 1, pp. 194-207.*

15. Leoni V., Nury T., Vejux A., Zarrouk A., Caccia C., Debbabi M., Fromont A., Sghaier R., Moreau T., Lizard G. Mitochondrial dysfunctions in 7-ketocholesterol-treated 158N oligodendrocytes without or with α-tocopherol: Impacts on the cellular profil of tricarboxylic cycle-associated organic acids, long chain saturated and unsaturated fatty acids, oxysterols, cholesterol and cholesterol precursors. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol., 2017, Vol. 169, pp. 96-110.*

16. Li L., Fath M.A., Scarbrough P.M., Watson W.H., Spitz D.R. Combined inhibition of glycolysis, the pentose cycle, and thioredoxin metabolism selectively increases cytotoxicity and oxidative stress in human breast and prostate cancer. *Redox Biol., 2015, Vol. 4, pp. 127-135.*

17. Li M., Song M., Ren L.M., Xiu C.Y., Liu J.Y., Zhu Y.Z., Li Y.F. AlCl3 induces lymphocyte apoptosis in rats through the mitochondria-caspase dependent pathway. *Environ. Toxicol., 2016, Vol. 31, no. 4, pp. 385-394.*

18. Medvedeva S.E., Tyulkova N.A., Kuznetsov A.M., Rodicheva E.K. Bioluminescent bioassays based on luminous bacteria. *Journal of Siberian Federal University. Biology, 2009, Vol. 2, no. 4, pp. 418-452.*

19. Melis D., Carbone F., Minopoli G., La Rocca C., Perna F., De Rosa V., Galgani M., Andria G., Parenti G., Matarese G. Cutting edge: Increased autoimmunity risk in glycogen storage disease type 1b is associated with a reduced engagement of glycolysis in t cells and an impaired regulatory T cell function. *J. Immunol., 2017, Vol. 198, no. 10, pp. 3803-3808.*

20. Nassif E., Thibault C., Vano Y., Fournier L., Mauge L., Verkarre V., Timsit M.O., Mejean A., Tartour E., Oudard S. Sunitinib in kidney cancer: 10 years of experience and development. *Expert Rev. Anticancer Ther., 2017, Vol. 17, no. 2129-2142.*

21. Previte D.M., O'Connor E.C., Novak E.A., Martins C.P., Mollen K.P., Piganelli J.D. Reactive oxygen species are required for driving efficient and sustained aerobic glycolysis during $CD4^+$ T cell activation. *PLoS ONE, 2017, Vol. 12, no. 4, pp. e0175549.* doi: 10.1371/journal.pone.0175549.

22. Sharabi A. Editorial: Molecules balancing immunological surveillance against cancer and autoimmune diseases. *Front. Oncol., 2016, Vol. 6, p. 86.*

23. Smirnova O.V., Manchouk V.T., Savchenko A.A. Immune status and enzymes activity in blood lymphocytes in adult patients at different stages of acute lymphoblastic leukemia. *Indian Journal of Medical Research, 2011, Vol. 133, pp. 280-286.*

24. Thakor P., Subramanian R.B., Thakkar S.S., Ray A., Thakkar V.R. Phytol induces ROS mediated apoptosis by induction of caspase 9 and 3 through activation of TRAIL, FAS and TNF receptors and inhibits tumor progression factor Glucose 6 phosphate dehydrogenase in lung carcinoma cell line (A549). *Biomed. Pharmacother., 2017, Vol. 92, pp. 491-500.*

25. Xu Y., Chaudhury A., Zhang M., Savoldo B., Metelitsa L.S., Rodgers J., Yustein J.T., Neilson J.R., Dotti G. Glycolysis determines dichotomous regulation of T cell subsets in hypoxia. *J. Clin. Invest., 2016, Vol. 126, no. 7, pp. 2678-2688.*

26. Zhu M., Fang J., Zhang J., Zhang Z., Xie J., Yu Y., Ruan J.J., Chen Z., Hou W., Yang G., Su W., Ruan B.H. Biomolecular interaction assays identified dual inhibitors of glutaminase and glutamate dehydrogenase that disrupt mitochondrial function and prevent growth of cancer cells. *Anal. Chem., 2017, Vol. 89, no. 3, pp. 1689-1696.*

Авторы:

Куртасова Л.М. *— д.м.н., профессор кафедры клинической иммунологии ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия*

Савченко А.А. *— д.м.н., профессор, руководитель лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“», обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера»; заведующий кафедрой физиологии имени проф. А.Т. Пшоника ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия*

Authors:

Kurtasova L.M.*, PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Immunology, Krasnoyarsk State V.F. Voino-Yasenetsky Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation*

Savchenko A.A.*, PhD, MD (Medicine), Professor, Laboratory of Cellular-Molecular Physiology and Patology, Research Institute of Medical Problems of the North, Siberian Branch, Krasnoyarsk Research Center, Russian Academy of Sciences; Head, Department of Physiology, Krasnoyarsk State V.F. Voino-Yasenetsky Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation*

Зуков Р.А. *— д.м.н., доцент, заведующий кафедрой онкологии и лучевой терапии с курсом ПО ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия*

Zukov R.A.*, PhD, MD (Medicine), Head, Department of Oncology and Radiation Therapy, Krasnoyarsk State V.F. Voino-Yasenetsky Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation*

Толмачева Т.В. *— к.м.н., доцент кафедры физиологии имени проф. А.Т. Пшоника ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия*

Tolmacheva T.V.*, PhD (Medicine), Assistant Professor, Department of Physiology, Krasnoyarsk State V.F. Voino-Yasenetsky Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation*

Поступила 08.07.2017
Принята к печати 22.09.2017

Received 08.07.2017
Accepted 22.09.2017