

СОСТОЯНИЕ ИММУННОГО СТАТУСА И АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ В ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ У БОЛЬНЫХ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ОСТРОГО ЛИМФОБЛАСТНОГО ЛЕЙКОЗА

Смирнова О.В., Манчук В.Т., Савченко А.А.

ГУ НИИ Медицинских проблем Севера СО РАМН, г. Красноярск

Резюме. Исследовано состояния иммунного статуса и активности ферментов в лимфоцитах крови у больных на разных стадиях острого лимфобластного лейкоза. Установлено, что у всех больных иммунный статус характеризовался снижением содержания Т-лимфоцитов. На стадии первичной атаки снижено содержание CD4⁺ клеток, повышена концентрация IgM и IgG. При ремиссии обнаружены наиболее низкие величины исследуемых параметров. Характерными особенностями рецидива являлись высокие содержания NK-клеток и дисбаланс уровней концентрации основных классов иммуноглобулинов. При исследовании метаболизма лимфоцитов у больных обнаружено, что при первичной атаке и рецидиве снижена интенсивность анаэробного окисления глюкозы и уровень реакций макромолекулярного синтеза. У больных на стадии ремиссии данные процессы восстанавливались до диапазона нормы. На всех стадиях в лимфоцитах крови выявляется снижение активности глутатионредуктазы.

Ключевые слова: иммунитет, острый лимфобластный лейкоз, ферменты.

Smirnova O.V., Manchouk V.T., Savchenko A.A.

IMMUNE PROFILE AND ENZYMES ACTIVITY STATE IN BLOOD LYMPHOCYTES IN PATIENTS OF DIFFERENT STAGES ACUTE LYMPHOBLAST LEUKEMIA

Abstract. We studied immunological state and activity of enzymes in blood lymphocytes from the patients at different stages of acute lymphoblastic leukemia. We have revealed that immune state in all the patients was characterized by decreased contents of T-lymphocytes. Upon first attack of the disease, they showed a decrease in CD4⁺ cells, as well as increased concentration of IgM and IgG. During remission, we have found the lowest values of all the parameters under study. In relapsing patients, high content of NK-cells, and imbalance between the main Ig classes were noted. When studying metabolism of lymphocyte, it was revealed that, in first attack and relapse phase, both intensity of anaerobic glucose oxidation, and levels of macromolecular synthetic reactions were decreased. In remission, all these processes did recover to normal range. At all stages of disease, glutathione reductase activity was found to be decreased in blood lymphocytes. (*Med. Immunol.*, vol. 10, N 6, pp 543-550)

Введение

Частота острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) в различных странах достигает 2-5 на 100 000 человек в год. Чаще ОЛЛ поражает детей, однако среди взрослых эта форма острого лейкоза встречается у 10-15% больных. Несмотря на то, что полная ремиссия, по данным литературы, достигается у 75-80% взрослых больных ОЛЛ, из них переживают 5-летний рубеж менее 30% [2, 3]. Кроме того, течение ОЛЛ у взрослых более тяжелое и злокачественное.

Каждый последующий рецидив имеет худший прогноз, чем предыдущий, а само по себе возникновение рецидива снижает вероятность выздоровления [2, 3, 7].

Многочисленные исследования посвящены изучению клинических и лечебных аспектов ведения этих больных [2, 3, 11]. Однако остаются малоизученными многие патогенетические аспекты данного заболевания. В частности, недостаточно исследованы иммунологические механизмы, способствующие возникновению осложнений, не оценена их роль в прогрессировании ОЛЛ. Все это определяет чрезвычайную актуальность дальнейшего изучения иммунопатогенеза ОЛЛ. При этом доказано, что уровень функциональной активности лимфоцитов определяется не только их популяционным и субпопуляционным

Адрес для переписки:

Смирнова Ольга Валентиновна
660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3г,
ГУ НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН.
Тел./факс: (3912) 28-06-83.
E-mail: ovsmirnova71@mail.ru

составом, но и состоянием метаболических внутриклеточных процессов, которые в значительной степени отражают способность клеток воспринимать регуляторные сигналы и развивать соответствующий функциональный ответ [8, 9, 10]. Целью исследования явилось изучение состояния иммунного статуса и активности ферментов в лимфоцитах крови у больных на разных стадиях ОЛЛ.

Материалы и методы

В исследование были включены пациенты, поступившие в гематологическое отделение Краевой клинической больницы № 1 г. Красноярска. Обследован 71 больной острым лимфобластным лейкозом в возрасте 35–65 лет. У всех больных острым лимфобластным лейкозом диагностировался пре-пре-В иммуноподвариант (common). У 23 больных диагностировалась первая атака, 26 пациентов были в стадии полной ремиссии после проведенного лечения по программе ВМФТ, и у 22 больных наблюдался повторный рецидив. В качестве контроля обследовано 106 здоровых лиц аналогичного возраста.

Для оценки клинической картины больным при поступлении собирался анамнез и проводилось полное клинико-лабораторное обследование. Для верификации диагноза всем больным при поступлении проводилась стерильная пункция с процентным и количественным определением пулов клеток, цитохимическим определением ферментов и иммунофенотипирование стерильного пунктата.

Лимфоциты из периферической крови выделяли в градиенте плотности фиколл-верографина. Чистоту выделения лимфоцитов оценивали микроскопически. Количество бластных клеток не превышало 1–3%. Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов крови оценивали с помощью метода непрямой иммунофлуоресценции с использованием моноклональных антител к CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, HLA-DR (ТОО «Сорбент», г. Москва). Дополнительно вычислялись иммунорегуляторный индекс ($CD4^+/CD8^+$) и индекс активации Т-лимфоцитов ($HLA-DR^+/CD19^+$) [4]. Концентрацию иммуноглобулинов классов А, М и G в сыворотке определяли иммуноферментным методом. Состояние гуморального иммунитета характеризовали также уровнем относительного синтеза IgA ($IgA/CD19^+$), IgM ($IgM/CD19^+$) и IgG ($IgG/CD19^+$) [5]. Оценка клеточного и гуморального иммунитета проводилась при поступлении больных до начала патогенетического лечения.

Определение активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови проводили билюминесцентным методом [6]. Данным методом определялась активность следующих ферментов: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ, КФ 1.1.1.49), 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 реак-

ции 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 лимфоцитах крови выражали в ферментативных единицах ($1 E = 1 \text{ мкмоль/мин [1]} \text{ на } 10^4 \text{ клеток}$).

Для всех полученных данных определяли среднее арифметическое значение (M) и ошибку средней арифметической (m). Проверку гипотезы о статистической достоверности выборок проводили критерием Манна – Уитни с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0 (StatSoft, Inc.).

Результаты и обсуждение

При исследовании состояния клеточного звена иммунной системы обнаружено, что при первичной атаке ОЛЛ повышается процентное и абсолютное содержание лимфоцитов в периферической крови при снижении относительного количества $CD3^+$ клеток (табл. 1). При этом понижение количества $CD3^+$ лимфоцитов определяется снижением процентного содержания $CD4^+$ клеток. У больных на стадии первичной атаки выявляется повышение абсолютного количества $CD8^+$ и $CD19^+$ лимфоцитов, снижение абсолютного уровня $CD16^+$ и понижение относительного и абсолютного содержания HLA-DR⁺ клеток. У больных на данной стадии повышена величина индекса активации Т-лимфоцитов и снижен уровень иммунорегуляторного индекса.

На стадии ремиссии выявляется снижение большинства исследуемых показателей клеточного звена иммунной системы относительно контрольных величин. Выявляется снижение процентного и абсолютного количества общих лимфоцитов, $CD3^+$, $CD4^+$ и $CD8^+$ клеток. У больных данной группы выявляется снижение абсолютного содержания $CD16^+$, $CD19^+$ и HLA-DR⁺ лимфоцитов, а также повышение процентного количества HLA-DR⁺ клеток относительно диапазона, выявленного у больных при первичной атаке. На стадии ремиссии сохраняется повышенная величина индекса активации Т-лимфоцитов.

При рецидиве ОЛЛ выявляется выраженное повышение величин исследуемых показателей клеточного иммунитета относительно уровней, выявленных у больных на стадии ремиссии. Однако относительно контрольного уровня большинство показателей нормализуется. Так, относительно величины показателей больных с ремиссией у пациентов с рецидивом повышается и достигает нормы относительное содержание лимфоцитов в крови, абсолютный уровень $CD3^+$, $CD16^+$ и HLA-DR⁺ клеток, процентное и абсолютное количество $CD4^+$ и $CD8^+$ лимфоцитов. Так же как и при первичной атаке и ремиссии, у больных при рецидиве остается значительно сниженным процентный уровень $CD3^+$ лимфоцитов. Так же

как и при первичной атаке, у больных с рецидивом повышается абсолютное содержание лимфоцитов в периферической крови. Абсолютное содержание CD19⁺ клеток у больных данной группы остается значительно пониженной относительно контрольных величин. Процентное количество CD16⁺ и HLA-DR⁺ лимфоцитов, а также величина индекса активации Т-лимфоцитов у больных с рецидивом значительно повышается как относительно величин при атаке и ремиссии заболевания, так и относительно контрольных значений. Относительно значений, выявленных при атаке и ремиссии, у больных при рецидиве заболевания

повышается и достигает уровня нормы величина иммунорегуляторного индекса.

В зависимости от стадии заболевания значительно изменяется величины показателей гуморального иммунитета (табл. 2). Так, при первичной атаке ОЛЛ в сыворотке крови больных людей повышается концентрация IgM и IgG. При ремиссии обнаружено: снижение концентрации IgG в сыворотке. При рецидиве заболевания установлено значительное снижение концентрации IgA и IgM и повышение сывороточного содержания IgG.

Анализ результатов иммунологического обследования позволяет охарактеризовать состояние

ТАБЛИЦА 1. ОСОБЕННОСТИ СОСТОЯНИЯ КЛЕТЧНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ОЛЛ (M±m)

Показатели	Здоровые N = 106 1	Атака N = 23 2	Ремиссия N = 26 3	Рецидив N = 22 4
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	6,40±0,16	6,08±0,83	5,79±0,42	6,06±0,20
Лимфоциты, %	38,5±0,8	47,6±6,2 P ₁ < 0,01	27,8±2,3 P _{1,2} < 0,001	42,2±4,8 P ₃ < 0,01
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	2,27±0,06	2,84±0,42 P ₁ < 0,05	1,61±0,16 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,01	2,64±0,23 P ₁ < 0,05 P ₃ < 0,001
CD3 ⁺ , %	66,6±0,6	57,5±3,6 P ₁ < 0,01	56,6±1,9 P ₁ < 0,001	58,9±2,9 P ₁ < 0,01
CD3 ⁺ , 10 ⁹ /л	1,48±0,05	1,53±0,25	0,85±0,07 P _{1,2} < 0,001	1,45±0,19 P ₃ < 0,01
CD4 ⁺ , %	41,5±0,8	33,4±3,5 P ₁ < 0,01	34,9±1,0 P ₁ < 0,001	44,5±2,3 P _{2,3} < 0,01
CD4 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,93±0,04	0,98±0,18	0,48±0,06 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,05	1,00±0,07 P ₃ < 0,001
CD8 ⁺ , %	26,6±0,7	27,2±2,5	21,8±1,4 P ₁ < 0,01	28,0±2,1 P ₃ < 0,01
CD8 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,62±0,02	1,19±0,22 P ₁ < 0,001	0,25±0,02 P ₁ < 0,001	0,73±0,10 P ₃ < 0,001
CD16 ⁺ , %	19,5±0,5	17,5±2,0	17,7±2,4	24,1±2,2 P ₁ < 0,001 P _{2,3} < 0,05
CD16 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,47±0,02	0,38±0,07 P ₁ < 0,05	0,31±0,06 P ₁ < 0,001	0,57±0,07 P ₃ < 0,01
CD19 ⁺ , %	12,5±0,4	10,6±1,8	10,9±1,5	12,7±1,9
CD19 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,28±0,01	0,40±0,09 P ₁ < 0,05	0,15±0,02 P _{1,2} < 0,001	0,21±0,03 P ₁ < 0,05
HLA-DR ⁺ , %	15,9±0,5	9,8±1,2 P ₁ < 0,001	16,9±2,2 P ₂ < 0,05	25,8±3,9 P _{1,3} < 0,05 P ₂ < 0,001
HLA-DR ⁺ , 10 ⁹ /л	0,37±0,02	0,18±0,02 P ₁ < 0,001	0,18±0,02 P ₁ < 0,001	0,42±0,07 P _{2,3} < 0,01
HLA-DR ⁺ /CD19 ⁺	1,23±0,05	1,60±0,09 P ₁ < 0,01	1,47±0,12 P ₁ < 0,05	2,15±0,17 P ₁ < 0,001 P _{2,3} < 0,01
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,51±0,04	1,26±0,08 P ₁ < 0,05	1,43±0,07	1,73±0,10 P ₂ < 0,001 P ₃ < 0,05

Примечания.

P₁ – статистически достоверные различия с показателями контрольной группы;

P₂ – статистически достоверные различия с показателями больных на стадии первичной атаки;

P₃ – статистически достоверные различия с показателями больных на стадии ремиссии ОЛЛ.

ТАБЛИЦА 2. СОСТОЯНИЕ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ОЛЛ (M±m)

Показатели	Здоровые N = 106 1	Атака N = 23 2	Ремиссия N = 36 3	Рецидив N = 22 4
IgA, г/л	2,23±0,08	1,88±0,32	2,18±0,39	0,92±0,08 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,01 P ₃ < 0,05
IgM, г/л	1,20±0,06	1,61±0,23 P ₁ < 0,05	1,14±0,16	0,58±0,11 P _{1,2} < 0,001 P ₃ < 0,01
IgG, г/л	10,94±0,32	16,71±2,81 P ₁ < 0,01	6,70±0,50 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,01	18,54±3,53 P _{1,3} < 0,01

Примечания.P₁ – статистически достоверные различия с показателями контрольной группы;P₂ – статистически достоверные различия с показателями больных на стадии первичной атаки;P₃ – статистически достоверные различия с показателями больных на стадии ремиссии ОЛЛ.

иммунной системы в зависимости от стадии ОЛЛ. Так, на стадии первичной атаки при повышении уровня общих лимфоцитов выявляется снижение содержания Т-лимфоцитов, CD4⁺ и NK-клеток, а также соответствующее понижение величины иммунорегуляторного индекса. Повышение абсолютного уровня цитотоксических Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов определяется за счет повышение количества общих лимфоцитов. У больных на данной стадии заболевания также выявляется понижение процентного и абсолютного содержания лимфоидных клеток, экспрессирующих HLA-DR-рецептор. Известно, что данный рецептор выявляется на В-лимфоцитах и активированных Т-лимфоцитах [9,16]. Для определения доли активированных Т-лимфоцитов в общей фракции HLA-DR⁺ клеток мы высчитывали индекс активации Т-лимфоцитов. Установлено, что на фоне снижения уровня HLA-DR⁺ клеток у больных на стадии первичной атаки повышается содержание активированных Т-лимфоцитов. Состояние гуморального иммунитета характеризуется повышенным уровнем IgM и IgG, при снижении функциональной активности В-лимфоцитов.

Стадия ремиссии характеризуется наиболее выраженным нарушением состояния иммунного статуса у больных ОЛЛ, что, по-видимому, определяется проведенной ранее цитостатической терапией. Так, при пониженном уровне общих лимфоцитов выявляется снижение содержания Т-лимфоцитов, регуляторных фракций Т-лимфоцитов, NK-клеток и В-лимфоцитов. Понижение содержания CD4⁺ клеток и цитотоксических лимфоцитов пропорционально и привело к нормализации величины иммунорегуляторного индекса. Уровень HLA-DR⁺ клеток у больных на стадии ремиссии соответствует контрольному диапазону. На данной стадии заболевания выявляется пониженная концентрация IgG и восстановление функции В-клеток.

При рецидиве ОЛЛ также выявляются характерные особенности состояния иммунного статуса. Так, при нормальном процентном уровне лимфоцитов в периферической крови обнаружено

снижение их абсолютного содержания. Сохраняется пониженный уровень Т-лимфоцитов, при этом содержание регуляторных фракций Т-лимфоцитов соответствует контрольному диапазону. Только при рецидиве заболевания выявляется повышение относительного уровня NK-клеток и HLA-DR⁺ лимфоцитов. Исходя из максимальной величины индекса активации Т-лимфоцитов при рецидиве, можно заключить, что на данной стадии заболевания в периферической крови выявляется наиболее высокий уровень активированных Т-лимфоцитов. Состояние гуморального иммунитета характеризуется дисбалансом концентрации основных классов иммуноглобулинов.

Обнаружены зависимые от стадии ОЛЛ особенности в уровнях активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови. Так, при исследовании уровней активности НАДФ-зависимых дегидрогеназ обнаружено, что при первичной атаке в лимфоцитах крови снижаются уровни Г6ФДГ (рис. 1А), НАДФМДГ (рис. 1Б), НАДФИЦДГ (рис. 1Г), ГР (рис. 1Д) и НАДФН-ГДГ (рис. 1Е) и повышается активность НАДФГДГ (рис. 1В). На стадии ремиссии сохраняется на низком уровне активность НАДФМДГ, НАДФИЦДГ и ГР. В то же время у больных данной группы активность Г6ФДГ и НАДФН-ГДГ повышается относительно уровней при первичной атаке до контрольного диапазона. Активность НАДФГДГ в лимфоцитах крови больных с ремиссией ППВЛЛ значительно снижена как относительно уровня, выявленного при первичной атаке, так и относительно контрольного диапазона.

Значительно изменяется активность НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови больных с рецидивом ОЛЛ. Также как и при первичной атаке, в лимфоцитах у больных на стадии рецидива снижается активность Г6ФДГ и НАДФН-ГДГ. Активность НАДФГДГ также повышена при рецидиве, как и при первичной атаке. До контрольного уровня повышается активность НАДФМДГ. Уровни активности НАДФИЦДГ и ГР повышаются относительно показателей, выявленных при первичной атаке

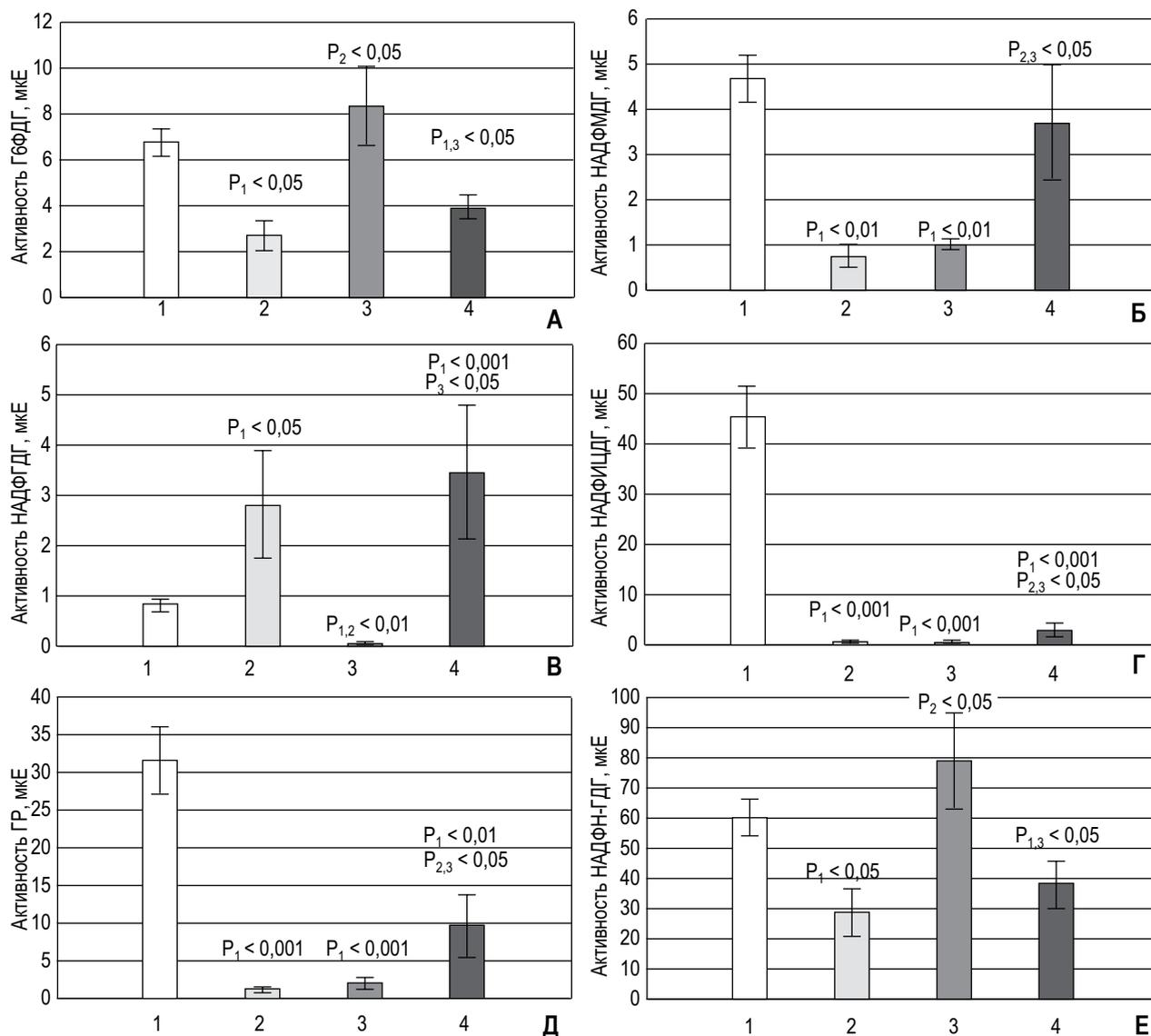


Рисунок 1. Уровни активности НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных на разных стадиях ОЛЛ

Примечание. 1 – контроль; 2 – первичная атака ОЛЛ; 3 – ремиссия ОЛЛ; 4 – рецидив ОЛЛ.

и рецидиве заболевания, но остаются сниженными относительно контрольного диапазона.

При исследовании активности НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови больных ОЛЛ обнаружено, что при первичной атаке снижаются уровни ГЗФДГ (рис. 2А), ЛДГ (рис. 2Б), МДГ (рис. 2В), НАДГДГ (рис. 2Г), НАДИЦДГ (рис. 2Д) и НАДН-ГДГ (рис. 2Е). На стадии ремиссии активность МДГ, НАДГДГ, НАДИЦДГ и НАДН-ГДГ остаются сниженными относительно контрольного диапазона. Активность ЛДГ в лимфоцитах крови при ремиссии снижается еще более выраженно, чем при первичной атаке. В то же время активность ГЗФДГ восстанавливается до контрольного диапазона. При рецидиве заболевания активность МДГ остается сниженной относительно контрольного уровня. Уровни активности Г6ФДГ и НАДН-ГДГ при рецидиве статистически достоверно снижены как относительно контрольного

диапазона, так и относительно уровней, выявленных при первичной атаке и ремиссии. Активность ЛДГ в лимфоцитах больных с рецидивом заболевания повышается относительно уровня, выявленного при ремиссии, но остается сниженной относительно уровня, выявленного при первичной атаке, и контрольного диапазона. Относительно контрольного диапазона и уровней, выявленных при атаке и ремиссии, значительно повышается активность НАДГДГ в лимфоцитах крови больных с рецидивом ОЛЛ. До контрольного диапазона повышается активность НАДИЦДГ.

Активность НАДН-ЛДГ в лимфоцитах крови при первичной атаке значительно снижается, при ремиссии заболевания восстанавливается до контрольного диапазона и остается на данном уровне при рецидиве (рис. 3А). Активность НАДН-МДГ при первичной атаке ОЛЛ сохраняется на уровне контрольного диапазона,

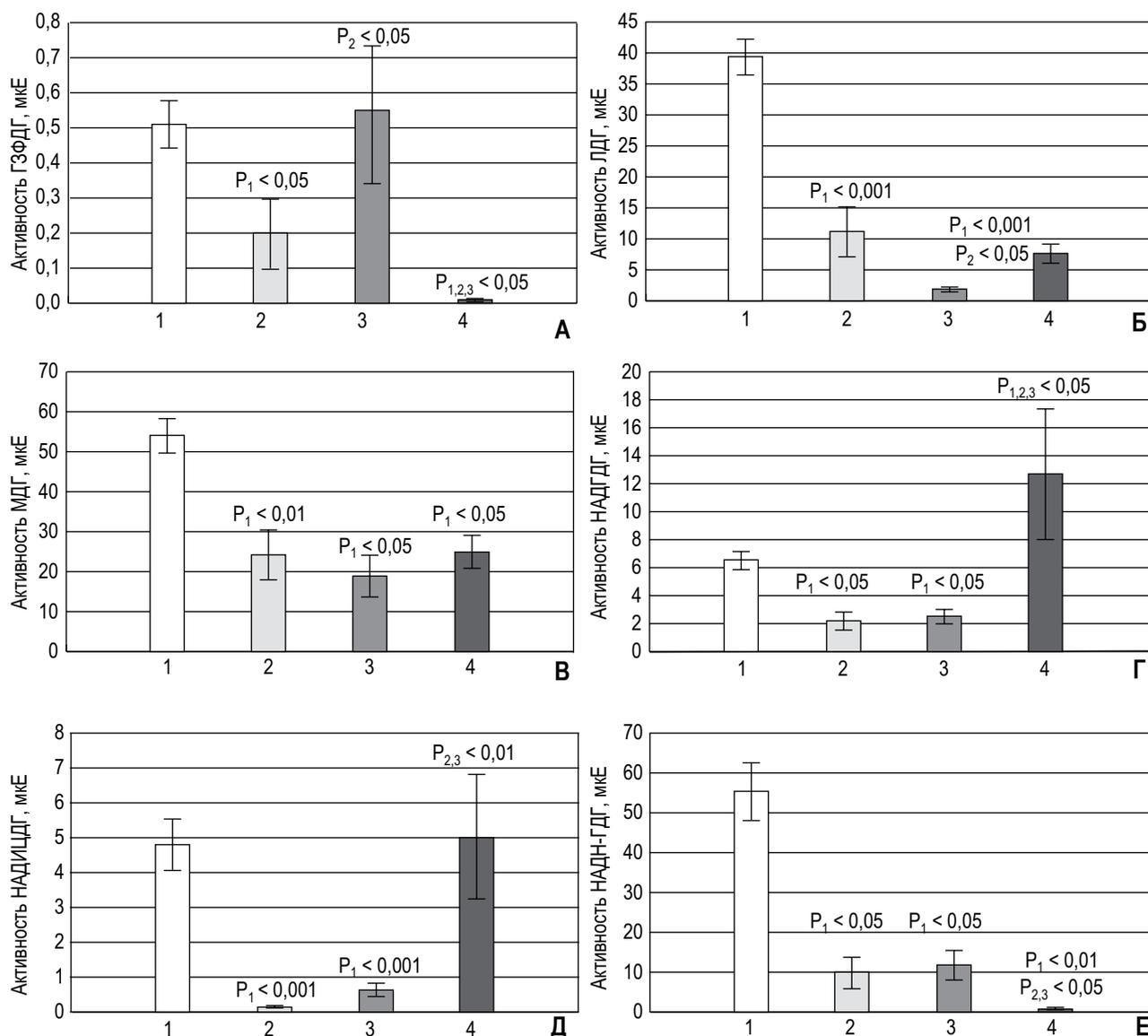


Рисунок 2. Уровни активности НАД-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных на разных стадиях ОЛЛ

Примечание. 1 – контроль; 2 – первичная атака ОЛЛ; 3 – ремиссия ОЛЛ; 4 – рецидив ОЛЛ.

при ремиссии заболевания значительно снижается (рис. 3Б). При рецидиве ОЛЛ активность фермента повышается относительно уровня, выявленного при ремиссии, но остается статистически достоверно низкой относительно контрольного диапазона и выявленного при первичной атаке.

Исследуемые ферменты занимают ключевые позиции на разных метаболических путях иммунокомпетентных клеток [1, 8, 13, 17]. Следовательно, их анализ позволяет не только оценить уровни активности отдельных ферментов, но и определить интенсивность метаболических путей или циклов, а также реактивность метаболических процессов в целом. Так, снижение внутриклеточной активности Г6ФДГ (ключевой и инициализирующий фермент пентозофосфатного цикла) у больных ОЛЛ на стадии первичной атаки и рецидива приведет к пониженной наработке продуктов пентозофосфатного цикла и, соответственно, ингибированию

ряда реакций макромолекулярного синтеза. Г6ФДГ является основным конкурентом гликолиза за субстрат. Однако при снижении активности данного фермента уровень анаэробной реакции ЛДГ (отражающей интенсивность терминальных стадий гликолиза) в клетках больных с первичной атакой также понижается. Все это позволяет предположить, что уровень анаэробного гликолиза ингибируется в лимфоцитах крови больных ОЛЛ на стадии первичной атаки и рецидивом как при поступлении глюкозы в клетки, так и на терминальных стадиях. Тем более что активность ГЗФДГ, осуществляющего перенос продуктов липидного катаболизма на реакции гликолиза [1, 17], в лимфоцитах больных с атакой и рецидивом также снижена. Необходимо отметить, что уровни данных ферментов цитоплазматического компартмента при ремиссии заболевания восстанавливаются до диапазона

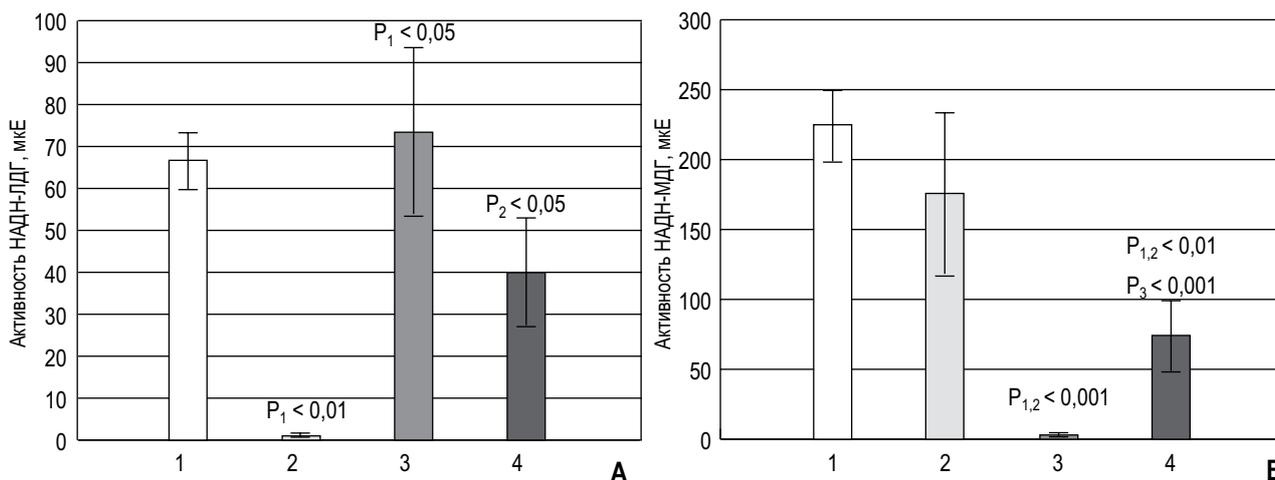


Рисунок 3. Активность НАДН-зависимых реакций ЛДГ (А) и МДГ (Б) в лимфоцитах крови у больных острым лимфобластным лейкозом

Примечание. 1 – контроль; 2 – первичная атака ОЛЛ; 3 – ремиссия ОЛЛ; 4 – рецидив ОЛЛ.

норма, что, соответственно, отражает нормализацию анаэробного окисления глюкозы.

Метаболически достаточно тесно с Г6ФДГ взаимодействует ГР [1, 8, 17]. Можно предположить, что при стадиях первичной атаки и рецидива активность ГР снижена за счет пониженного уровня наработки НАДФН в пентозофосфатном цикле. В то время как при ремиссии заболевания выявляется значительное снижение активности НАДН-ГДГ, от уровня которого зависит синтез глутатиона. В свою очередь, недостаточность активности фермента глутатион-зависимой антиоксидантной системы может привести к повышенному уровню перекисных процессов и, соответственно, снижению их функциональной активности.

Лимфоциты являются аэробными клетками. Известно, что интенсивность аэробных процессов в значительной степени определяются активностью цикла трикарбоновых кислот. При исследовании уровней активности ферментов, определяющих субстратный поток по циклу Кребса, установлено, что активность НАДИЦДГ (одного из регулирующих цикл ферментов, характеризующего интенсивность начальных реакций) значительно понижен в лимфоцитах крови больных на стадиях первичной атаки и ремиссии. В то же время активность МДГ (другого регуляторного фермента, отражающего интенсивность терминальных реакций) снижена на всех стадиях ОЛЛ. При этом уровень активности вспомогательной дегидрогеназной реакции – НАДФИЦДГ – также снижен при всех стадиях заболевания.

Необходимо отметить, что интенсивность субстратного потока по циклу Кребса определяется также уровнем притока и оттока субстратов. Так, большое значение для аэробных процессов имеет аэробная реакция ЛДГ и шунтирующая реакция НАДФМДГ [1]. При этом у больных на всех стадиях ОЛЛ активность аэробной реакции снижена. В то же время обнаружено, при первичной атаке и ремиссии заболевания активность НАДФМДГ

также снижена, тогда как при рецидиве – восстанавливается до контрольного диапазона. Через НАДГДГ и НАДФГДГ осуществляется приток субстратов с реакции аминокислотного обмена на реакции лимонного цикла [13, 15]. У больных на стадиях первичной атаки и ремиссии активность НАДГДГ снижена, тогда как при рецидиве заболевания значительно повышается. Вспомогательная дегидрогеназная реакция НАДФГДГ повышена при атаке и рецидиве. Уровень оттока субстратов с лимонного цикла на реакции аминокислотного обмена осуществляется через НАДН-ГДГ и НАДФН-ГДГ. Обнаружено, что изменение активности НАДН-ГДГ по стадиям ОЛЛ полностью соответствует уровням НАДГДГ. В то же время изменение активности НАДФН-ГДГ обратное по изменениям уровней НАДФГДГ. В связи с этим можно заключить, что в лимфоцитах крови больных на стадиях первичной атаки и рецидива преобладает НАДФ-зависимый приток субстратов, в то же время при ремиссии заболевания уровень притока снижается, уровень оттока с реакций цикла Кребса – повышается. НАД-зависимые субстратные взаимосвязи между циклом трикарбоновых кислот и аминокислотным обменом в лимфоцитах больных на всех стадиях ОЛЛ снижены. НАДН-МДГ является ключевой реакцией малат-аспаратного шунта – основной системы, поддерживающей водородный градиент в митохондриях [1]. Минимальная активность НАДН-МДГ выявляется в лимфоцитах крови при ремиссии, в то время как при рецидиве заболевания уровень фермента повышается более чем в 60 раз, но остается сниженным по сравнению с контрольным диапазоном. Следовательно, в лимфоцитах крови у больных ОЛЛ независимо от стадии заболевания снижена интенсивность аэробных процессов, нарушены процессы субстратного взаимодействия между реакциями цикла трикарбоновых кислот и аминокислотным обменом. На стадиях ремиссии и рецидива нарушения метаболического статуса митохондриального компартмента лимфоцитов

осложняется ингибированием ключевой реакции малат-аспартатного шунта и, соответственно, снижением водородного градиента.

При исследовании показателей иммунной системы и активности ферментов в лимфоцитах крови установлено, что у всех больных ОЛЛ иммунный статус характеризовался снижением содержания Т-лимфоцитов в периферической крови. На стадии первичной атаки снижены содержания CD4⁺ лимфоцитов при повышенных уровнях концентрации IgM и IgG. При ремиссии выявлялись наиболее низкие величины исследуемых параметров. Характерными особенностями рецидива ОЛЛ является высокое содержание NK-клеток и дисбаланс уровней концентрации основных классов иммуноглобулинов. При исследовании метаболизма лимфоцитов у больных ОЛЛ обнаружено, что при первичной атаке и рецидиве заболевания снижена интенсивность анаэробного окисления глюкозы и уровень реакций макромолекулярного синтеза. У больных на стадии ремиссии данные метаболические процессы восстанавливаются до диапазона нормы. На всех стадиях в лимфоцитах крови выявляется снижение активности глутатионредуктазы.

Список литературы

1. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. — М.: Медицина, 1998. — 704 с.
2. Волкова М.А. Клиническая онкогематология. — М.: Медицина, 2001. — 576 с.
3. Воробьев А.И. Руководство по гематологии в 3-х томах. — М.: Ньюдиамед, 2002.
4. Зуева Е.Е., Афанасьев Б.В., Тотолян А.А. Иммунофенотипирование в диагностике острого лейкоза (лекция) // Клиническая лаб. диагностика. — 2004. — № 7. — С. 25-32.
5. Земсков А.М., Караулов А.В., Земсков В.М. Комбинированная иммунокоррекция. — М.: Наука, 1994. — 260 с.
6. Савченко А.А., Сунцова Л.Н. Высокочувствительное определение активности дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови биололюминесцентным методом // Лаб. дело. — 1989. — № 11. — С. 23-25.
7. Chiou S.H., Sheu B.C., Chang W.C., Wang X., Zheng J., Liu J., Yao J., He Y., Li X., Yu J. Current concepts of tumor-infiltrating lymphocytes in human malignancies // J. Reprod. Immunol. — 2005. — Vol. 67, N 1-2. — P. 35-50.
8. Hashimoto S., Ishisaki A., Yamato K. Intracellular apoptosis-inducing factor is induced by a vacuolar type H⁺-ATPase inhibitor in B lineage cells // J. Cell Physiol. — 2001. — Vol. 186, N 1. — P. 65-72.
9. Mazur B., Olejnik I., Wylezol I., Sonta-Jakimczyk D., Szczepanski T., Karpe J. Assessment of chosen parameters of the immune system in children with acute lymphoblastic leukemia // Pediatr. Hematol. Oncol. — 2003. — Vol. 20, N 4. — P. 303-308.
10. Nakamura H., Idiris A., Kato Y., Kato H. An increase in the percentage of HLA-DR-positive peripheral leukocytes predicts a poor prognosis in patients with squamous cell carcinoma of the lung // Oncol. Rep. — 2004. — Vol. 11, N 3. — P. 673-676.
11. Peshikova M.V., Dolgushin I.I., Rusanova N.N. Etiology and structure of infectious complications of cytostatic therapy in children with acute lymphoblastic leukemia and non-B-cell non-Hodgkin lymphomas // Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. — 2002. — N 1. — P. 70-71.

поступила в редакцию 15.05.2008
отправлена на доработку 10.06.2008
принята к печати 01.10.2008