

ИССЛЕДОВАНИЕ ЕСТЕСТВЕННОЙ ИНГИБИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ СЫВОРОТКИ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ЛЕЙКОЗОМ

Черноусова Г.М.¹, Родосская Н.К.²

¹ Воронежская областная клиническая больница № 1, г. Воронеж

² Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко, г. Воронеж

Резюме. В статье приведены результаты исследования естественной ингибирующей активности сыворотки крови у больных острым лейкозом. Выявлена взаимосвязь между резистентностью к миелосупрессивной терапией и положительной реакцией ингибирования активности иммуноглобулинов класса М. Исследование уровня IL-2, IL-4, SH-групп и количества бластных клеток в дебюте заболевания имеют большое значение для ранней диагностики лекарственной резистентности.

Ключевые слова: естественная ингибирующая активность, сыворотка крови, SH-группы, IL-2, IL-4.

Chernousova G.M., Rodoskaya N.K.

INVESTIGATION OF NATURAL INHIBITORY ACTIVITY OF BLOOD SERUM IN ACUTE LEUKEMIA PATIENTS

Abstract. The article contains results of studying the natural inhibitory serum activity in the patients with acute leukemia. A correlation is revealed between a resistance to myelosuppressive therapy, and positive inhibitory reaction towards immunoglobulins M. Determination of IL-2, IL-4 levels, as well as sulfhydryl (SH-) groups and amounts of blast cells at initial stage of disease are of high importance for early diagnosis of drug resistance upon the disease onset. (*Med. Immunol., vol. 11, N 6, pp 577-580*)

Введение

Давно стало очевидным, что для получения и сохранения полной ремиссии имеют значения не только количественные изменения опухолевой массы в ходе лечения, но и контроль над ней со стороны иммунной системы [2, 4, 6]. Рядом исследователей доказано, что иммунный ответ в большей степени отвечает за длительность ремиссии, чем химиотерапия. Но большинство опухолей успешно избегают иммунологического надзора. Однако попытки выявить механизмы, позволяющие ускользать опухоли из-под влия-

ния иммунной системы, до сих пор остаются безуспешны [1]. Изучение взаимоотношения опухоли и иммунной системы является в настоящее время наиболее актуальной и перспективной, т.к. это позволяет не только понять сущность процесса опухолевого роста, но и воздействовать на нее более эффективно.

Среди регуляторных механизмов функционирования иммунной системы важное место занимает явление ингибирования активности сывороточных иммуноглобулинов (Ig) класса М, большинство из которых относятся к цитотоксическим антителам, оказывающим тормозящее действие на развитие опухоли. Впервые явление ингибирования активности IgM было обнаружено Н.В. Журавлевой и М.В. Земсковым в 1969 г. и было названо естественной ингибирующей активностью (ЕИА) сыворотки крови. В 1977 г. оно было зарегистрировано как

Адрес для переписки:

Черноусова Галина Михайловна,
396907, Воронежская обл., с. Семилуки,
ул. Лесная, 36.

Тел.: (906) 677-21-69.

E-mail: galinachernousova@yandex.ru

открытие [3]. В физиологических условиях период естественного ингибирования IgM, как правило, длится две недели, после чего вновь происходит увеличение титров и активности антител. Продолжительность ЕИА увеличивается в случаях длительного антигенного воздействия на организм, что ведет к развитию вторичного иммунодефицита, играющего важную роль в патогенезе ряда заболеваний. В основе механизма ЕИА сыворотки крови лежит нарушение антителогенеза за счет снижения мобильности рецепторов лимфоцитов и предотвращения дифференцировки В-лимфоцитов в антителообразующие клетки. Действие ЕИА связано с аминокислотой цистеином с активными сульфгидрильными группами (SH-группами) [3, 5].

В исследованиях патогенетических механизмов возникновения терминальной стадии острого лейкоза вследствие появления резистентных к стандартной терапии субклонов опухолевых клеток нарушению регуляции иммунной системы уделяется не достаточное внимание. В этой связи несомненный интерес представляет изучение ЕИА сывороточных иммуноглобулинов класса М у больных острым лейкозом и ее взаимосвязь с эффективностью терапии.

Материалы и методы

Под наблюдением с 2005 по 2008 год находилось 87 пациентов с диагнозом острый лейкоз. Медиана возраста больных на момент обследования составила 42,5 года.

Исследования проводились до начала полихимиотерапии с определением естественной ингибирующей активности сыворотки крови, концентрации общих SH-групп, IL-2, IL-4 и количества бластных клеток в костном мозге. Полученные данные сравнивались с результатами исследований, проведенными у 30 доноров.

Ингибирующие свойства сыворотки крови изучали методом Н.В. Журавлевой с помощью постановки реакции ингибирования активности антител (РИА) [5]. Принцип метода основан на определении агглютинирующих свойств тест-сыворотки (гемагглютинирующей сыворотки) с заранее известными титрами после ее контакта с сыворотками исследуемых больных. Результаты реакции выражали индексом ингибирования (ИИ), который определяли как отношение суммарного титра тест-сыворотки, определяемого после ее контакта с физиологическим раствором, к суммарному титру после ее контакта с испытуемой сывороткой. Положительной РИА считали при ИИ $\geq 1,1$. Количество общих SH-групп в цельной крови определяли по методу Х.М. Рубинной и Л.А. Романчук. IL-2 определяли в сыворотке крови тест-наборами ООО «Протеиновый контур» (г. Санкт-Петербург). Для определения IL-4 в сыворотке крови использовали тест-систему IL-4–ИФА–БЕСТ (г. Новосибирск).

Статистическая обработка проводилась с использованием программы «Statistica 6.0». Данные представлены в виде медианы (Me). Достоверность различий показателей сравниваемых групп определяли с помощью критерия Манна–Уитни,

ТАБЛИЦА 1. УРОВЕНЬ ИИ, SH-ГРУПП, IL-2 И IL-4 У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ЛЕЙКОЗОМ (Me)

Показатели	Группы			
	доноры (n = 30)	чувствительные к терапии (S) (n = 39)	резистентные к терапии с ИИ < 1,1 (R ₁) (n = 20)	резистентные к терапии с ИИ $\geq 1,1$ (R ₂) (n = 28)
ИИ	0,87	0,89 ⁴	0,77 ⁴	1,25 ^{1, 2, 3}
SH-группы, мМоль/л	0,03	0,03 ⁴	0,03 ⁴	0,04 ^{1, 2, 3}
IL-2, пг/мл	200,0	230,0 ^{3, 4}	120,0 ^{1, 2, 4}	47,5 ^{1, 2, 3}
IL-4, пг/мл	15,0	20,0 ^{3, 4}	122,0 ^{1, 2, 4}	390,0 ^{1, 2, 3}
Бластные клетки костно- го мозга, %	-	79,5 ¹	92,3 ¹	63,6 ¹

Примечание. p < 0,01 по сравнению с: 1 – донорами; 2 – группой S; 3 – группой R₁; 4 – группой R₂.

Вилкоксона. Корреляционную зависимость оценивали по тесту Спирмена.

Результаты и обсуждение

По результатам проведенного лечения (табл. 1) все больные были разделены на две группы: I группа (S) – чувствительные 39 (45%), у которых после первого курса индукционной терапии получена стойкая ремиссия, сохраняющаяся более года, II группа (R) – резистентные 48 (55%) к проводимой терапии. Резистентными к стандартной миелосупрессивной терапии считали больных, у которых после первого курса терапии не получена ремиссия – 36 человек (75%), а также больных с ранними рецидивами заболевания – 12 человек (25%).

В группе резистентных к химиотерапии больных после постановки РИА сыворотки крови было выделено две подгруппы в зависимости от уровня ИИ: R₁ – ИИ которых был < 1,1 (20 человек); и R₂ – с ИИ ≥ 1,1 (28 человек).

Проведенные нами исследования показали, что сыворотка крови 34,5% (30 человек) больных имела положительную РИА (≥ 1,1). Из них только у 2 человек получена клинико-гематологическая ремиссия после первого индукционного курса, сохранявшаяся более года. У остальных 28 больных ремиссия не достигнута. Эти больные составляли 58,3 % от всех больных, резистентных к химиотерапии. То есть положительная РИА у больных острым лейкозом, резистентных к химиотерапии, наблюдалась гораздо чаще, чем у больных с хорошим ответом на проводимую терапию.

SH-группы сыворотки крови коррелировали с ИИ (в группе S – r = 0,54; в группе R₁ – r = 0,82; в группе R₂ – r = 0,72, (p < 0,001)). Показатели SH-групп пациентов с отрицательной РИА, как группы S, так и группы R₁, достоверно отличались от показателей доноров. В то время как в группе R₂ наблюдалось увеличение активных SH-групп.

При исследовании содержание IL-2 и IL-4 в сыворотке крови больных группы было выявлено, что их содержание было несколько выше, чем у доноров, хотя эта разница достоверна. В группе R₁ концентрация IL-2 была меньше, чем у доноров. У больных же группы R₂ концентрация IL-2 была самой низкой. Параллельно с уменьшением уровня IL-2 в группах резистентных к терапии пациентов увеличивалось содержание IL-4. Наибольшая концентрация IL-4 выявлена у больных группы R₂, которая была выше, чем у доноров и больных группы R₁.

Соотношение количества IL-2/IL-4 в группе R₁ составляло 1:1, а в группе R₂ вследствие резкого увеличения концентрации IL-4 – 1:8, что с поляризацией иммунного ответа в сторону преобладания Т-хелперов 2 типа, продуцирующих IL-4. Между концентрацией IL-2 и количеством бластных клеток костного мозга в дебюте заболевания выявлена обратная корреляционная связь во всех группах пациентов.

Высокая частота выявления в дебюте заболевания положительной РИА у больных острым лейкозом, резистентных к миелосупрессивной терапии, свидетельствует о тесной связи ЕИА сыворотки крови с возникновением и прогрессированием заболевания, обусловленного появлением нечувствительных к терапии опухолевых клеток. Это, вероятно, связано со способностью ЕИА вызывать снижение антителообразования и IgM-комплементзависимой цитотоксичности в отношении различных антигенов, в том числе опухолевых (бластных) клеток. Возможно также, что ЕИА сыворотки крови больных острым лейкозом непосредственно взаимодействует с опухолевыми антигенами, блокируя их от цитотоксического действия клеток-киллеров.

В основе нарушения выработки интерлейкинов у больных острым лейкозом с положительной РИА, вероятно, лежит снижение мобильности мембранных рецепторов, в результате чего нарушается процесса презентации В-клетками комплекса антигенов с молекулами МНС II Т-лимфоцитам (CD4⁺), что влечет за собой нарушение процесса активации Т-хелперов, продуцирующих IL-2 и IL-4.

Таким образом, определение ЕИА сыворотки крови представляет несомненный интерес для изучения патогенетических механизмов опухолевой прогрессии с целью прогнозирования эффективности терапии и исхода заболевания.

Список литературы

1. Головизнин М.В. Вмешательство раковых клеток в процессы созревания и селекции Т-лимфоцитов как фактор опухолевой прогрессии // Иммунология. – 2001. – № 6. – С. 4-10.
2. Земсков М.В. Явление ингибирования активности антител // Открытия в СССР 1977. – М., 1978. – С. 33-35.
3. Воробьев А.И., Воробьев И.А., Кравченко С.К. и др. Онкогематология – особая область патологии системы крови // Тер. архив. – 2007. – № 7. – С. 5-7.

4. Родосская Н.К. Изучение свойств естественного ингибирующего фактора и путей коррекции иммунопатологии, обусловленной его гиперфункцией: Автореф дис. ... д-ра мед. наук. – Воронеж, 2003. – 31 с.

5. Ройт А. Иммунология. – М.: Мир, 2000. – 328 с.

6. Mazur B., Mertas A., Sonta-Jakimczyk D., Szczepanski T., Janik-Moszant A.. Concentration

of IL-2, IL-6, IL-8, IL-10 and TNF α in children with acute lymphoblastic leukemia after cessation of chemotherapy // Hematol. Oncol. – 2004. – Vol. 22, N 1. – P. 27-34.

поступила в редакцию 08.04.2009

отправлена на доработку 22.04.2009

принята к печати 18.06.2009