

МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ СТАТУС ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ МИЕЛОЛЕЙКОЗЕ И ХРОНИЧЕСКОМ ЛИМФОЛЕЙКОЗЕ

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

ГУ НИИ Медицинских проблем Севера СО РАМН, г. Красноярск

Резюме. Исследовано состояние метаболического статуса лимфоцитов крови у 44 больных хроническим миелолейкозом и у 57 больных хроническим лимфолейкозом. Наиболее выраженные нарушения метаболизма лимфоцитов крови у больных хроническим миелолейкозом и у больных хроническим лимфолейкозом обнаружены в терминальной стадии заболевания. У больных хроническим миелолейкозом и у больных хроническим лимфолейкозом в обеих стадиях наблюдаются уменьшение интенсивности метаболических процессов в лимфоцитах крови. При этом у больных хроническим миелолейкозом дополнительно на обеих стадиях снижается антиоксидантная защита клеток. Наибольшие биохимические нарушения у больных хроническим миелолейкозом в развернутую стадию обнаруживаются в углеводном обмене, а в терминальную стадию — в углеводном и жировом обменах. Наибольшие нарушения у больных хроническим лимфолейкозом в развернутую стадию регистрируются в углеводном и белковом обменах, а в терминальную стадию — в углеводном, жировом и белковом обменах. Выявленные нарушения указывают на более тяжелое течение заболевания у больных хроническим миелолейкозом. Эти изменения и различия характеризуют иммунопатогенетические аспекты развития и прогрессирования хронического миелолейкоза и хронического лимфолейкоза.

Ключевые слова: метаболизм лимфоцитов, хронический лимфолейкоз, миелолейкоз.

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

METABOLIC STATE OF BLOOD LYMPHOCYTES IN CHRONIC MYELOID LEUKEMIA AND CHRONIC LYMPHOID LEUKEMIA

Abstract. We examined metabolic status of blood lymphocytes in forty-four patients with chronic myeloid leukemia (CML), and in fifty-seven patients with chronic lymphoid leukemia (CLL). The most pronounced changes of enzyme activities are found in blood lymphocytes of CML and CLL patients during terminal stage of the disease. All the patients with chronic leukemia at both stages showed a decreased intensity of metabolic processes in blood lymphocytes. In addition, CML patients at both clinical stages exhibited a decrease in antioxidant cell protection. The more pronounced biochemical disturbances in CML patients at progression stage concerned carbohydrate metabolism, whereas the changes at terminal stage of disease affected both carbohydrate and fat metabolism. The most marked biochemical alterations in CLL at progression stage are registered for carbohydrate and protein metabolism, and carbohydrate, fat and protein metabolism at terminal stage of disease. The revealed changes showed indicate to more severe clinical course in the patients with CML. These changes and differences depict some aspects of immune pathogenesis in development and progression of CML and CLL. (*Med. Immunol.*, 2008, vol. 10, N 1, pp 21-26)

Адрес для переписки:

Смирнова Ольга Валентиновна
ГУ НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН.
660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3Г.
Тел./факс: (3912) 23-19-63.
E-mail: ovsmirnova71@mail.ru

Введение

Хронический миелолейкоз (ХМ) — распространенный вид лейкоза, на долю которого приходится около 20% среди всех лейкозов [3,10,11,12]. Чаше заболевают мужчины в воз-

расте 30–50 лет. Тяжелое течение заболевания, неуклонное прогрессирование процесса, несмотря на проводимое лечение, большое количество осложнений, трудоспособный возраст заболевших — все это определяет чрезвычайную актуальность изучения патогенеза ХМ с позиций механизмов иммунореактивности. Хроническим лимфолейкозом (ХЛ) также чаще болеют мужчины в возрасте 50–70 лет. Однако в настоящее время появились сообщения о том, что возникновение ХЛ возможно и у молодых людей [12]. Заболевание имеет отчетливую связь с возрастом, полом, расой, национальными особенностями, имеет наследственный фактор распространения [2, 3, 8, 9, 12]. Клинические, морфологические и цитогенетические исследования позволяют считать ХЛ неоднородным заболеванием, имеющим множество форм с различной клинической картиной, длительностью болезни и ответом на терапию. В то же время окончательно не уточнены патофизиологические характеристики заболевания, все это и послужило поводом для проведения нашего исследования.

В настоящее время доказано, что уровень иммунореактивности определяется не только морфологическим составом клеток иммунной системы и концентрацией иммуноглобулинов в сыворотке крови, но и уровнем метаболических процессов в иммунокомпетентных клетках, которые в значительной степени определяют функциональную активность иммунцитов [6, 7]. Целью настоящего исследования явилось изучение особенностей состояния метаболического статуса лимфоцитов крови у больных ХМ и ХЛ в зависимости от стадии заболевания.

Материалы и методы

Всего под наблюдением находилось 44 больных ХМ и 57 больных ХЛ. Средний возраст заболевших составил $55,2 \pm 2,4$ года у больных ХМ и $55,4 \pm 1,6$ лет у больных ХЛ. У 20 больных ХМ и 32 больных ХЛ заболевание диагностировалось в развернутую стадию, а у 24 ХМ и 25 ХЛ — в терминальную стадию. В качестве контроля обследовано 106 здоровых лиц аналогичного возраста.

Определение активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови проводилось биоломинесцентным методом при поступлении больных до начала патогенетического лечения [5, 6]. Данным методом определялась активность следующих ферментов: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (Г3ФДГ), малик-фермента (НАДФМДГ), НАД- и НАДН-зависимой реакции лактатдегидрогеназы (ЛДГ и НАДН-ЛДГ), НАД- и НАДН-зависимой реакции малатдегидрогеназы (МДГ и НАДН-МДГ), НАДФ- и НАДФН-

зависимой глутаматдегидрогеназы (НАДФГДГ и НАДФН-ГДГ), НАД- и НАДН-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАДГДГ и НАДН-ГДГ), НАД- и НАДФ-зависимых изоцитратдегидрогеназ (НАДИЦДГ и НАДФИЦДГ, соответственно) и глутатионредуктазы (ГР). Активность дегидрогеназ в лимфоцитах крови выражали в ферментативных единицах ($1 \text{ Е} = 1 \text{ мкмоль/мин}$ [1]) на 10^4 клеток.

Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей (C_{25} и C_{75}). Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по непараметрическому критерию Манна–Уитни. Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных программ Statistica 7.0 (StatSoft Inc., 2004).

Результаты и обсуждение

При исследовании состояния метаболического статуса лимфоцитов крови у больных ХМ установлено, что на всех стадиях заболевания снижается активность ферментов Г6ФДГ, ЛДГ, НАДФИЦДГ, НАДИЦДГ и ГР относительно контрольных значений (табл. 1).

У больных в развернутой стадии ХМ, относительно контрольных показателей, дополнительно снижается активность МДГ, НАДН-ЛДГ, при этом активность последнего фермента снижена и относительно показателей больных в терминальной стадии. У больных в терминальной стадии ХМ дополнительно снижается активность Г3ФДГ, относительно контрольных показателей. У больных в развернутой стадии ХМ снижается активность Г6ФДГ, ключевой реакции пентозофосфатного цикла, которая свидетельствует о снижении уровня продуктов пентозофосфатного цикла и ингибировании реакций макромолекулярного синтеза. У больных в развернутую стадию снижена интенсивность гликолиза и, по-видимому, уменьшен уровень концентрации интермедиаторов для цикла трикарбоновых кислот за счет уменьшения активности фермента ЛДГ [1, 5, 7]. При этом можно предположить, что ингибирование ферментативных реакций гликолиза в лимфоцитах крови больных осуществляется на терминальных реакциях (снижена активность НАДН-ЛДГ). Снижение активности НАДИЦДГ и МДГ отражает снижение интенсивности субстратного потока по лимонному циклу. У больных в развернутой стадии ХМ имеется недостаточность метаболических реакций митохондриального компартмента, которая определяется снижением активности вспомогательной дегидрогеназной реакции НАДФИЦДГ. Также особенностью метаболизма лимфоцитов крови у больных данной группы является снижение активности ГР, которая отражает снижение пере-

ТАБЛИЦА 1. АКТИВНОСТЬ НАД(Ф)-ЗАВИСИМЫХ ДЕГИДРОГЕНАЗ В ЛИМФОЦИТАХ В КРОВИ У БОЛЬНЫХ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ХМ (МЕ, C₂₅-C₇₅)

Показатели	Контроль, n = 118		Развернутая, n = 12		Терминальная, n = 20	
	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅
Г6ФДГ	4,32	0,90-13,87	0,07	0,00-5,89	0,63	0,00-6,48
			p ₁ < 0,001		p ₁ < 0,01	
ГЗФДГ	0,63	0,00-1,96	0,05	0,01-0,13	0,00	0,00-0,03
					p ₁ < 0,01	
ЛДГ	38,43	14,85-98,98	4,47	0,00-21,25	11,46	0,00-14,27
			p ₁ < 0,001		p ₁ < 0,001	
НАДФМДГ	2,84	0,64-12,75	0,89	0,06-4,29	1,11	0,02-16,65
НАДФГДГ	0,59	0,00-2,56	0,00	0,00-0,41	0,25	0,00-2,72
НАДФИЦДГ	33,33	14,70-63,63	0,79	0,22-1,97	2,27	1,03-2,81
			p ₁ < 0,001		p ₁ < 0,001	
МДГ	70,43	17,99-144,3	23,02	8,27-39,88	32,01	22,56-48,98
			p ₁ < 0,01			
НАДГДГ	5,64	0,47-16,76	0,79	0,08-5,14	3,06	0,98-16,94
НАДИЦДГ	4,05	1,00-12,93	0,00	0,00-0,26	0,04	0,00-1,82
			p ₁ < 0,001		p ₁ < 0,001	
НАДН-ЛДГ	72,87	8,56-196,34	0,00	0,00-2,61	67,73	0,00-175,41
			p ₁ < 0,001		p ₂ < 0,01	
НАДН-МДГ	128,37	35,45-357,1	58,79	13,65- 123,46	104,8	32,17-261,36
ГР	19,64	1,67-113,62	3,22	0,00-20,24	1,24	0,00-22,13
			p ₁ < 0,05		p ₁ < 0,01	
НАДН-ГДГ	49,94	13,93-83,36	22,70	11,45-38,02	30,25	7,77-59,90
НАДФН-ГДГ	52,87	29,59-84,88	34,00	11,69-84,05	61,74	48,90-86,53

кислых процессов в клетках крови у больных в развернутой стадии ХМ [1, 4, 5, 6].

У больных в терминальную стадию ХМ дополнительно снижается активность ГЗФДГ и восстанавливаются до контрольных значений уровни МДГ и НАДН-ЛДГ. У больных в терминальную стадию ХМ в лимфоцитах крови снижены пластические процессы, определяемые реакциями Г6ФДГ. Пониженный уровень активности ГЗФДГ характеризует снижение уровня переноса продуктов липидного катаболизма на окислительно-восстановительные реакции гликолиза. Подобное состояние реакций, стимулирующих анаэробное окисление глюкозы, соответственно может привести к ингибированию гликолиза, что подтверждается снижением активности анаэробной реакции ЛДГ. Однако в лимфоцитах крови активность аэробной реакции ЛДГ также снижается, в результате чего в митохондриальный компартмент может поступать пониженное количество данного субстрата, что, соответственно, приведет к ингибированию ферментативных реакций цикла трикарбоновых кислот [1, 5, 7].

Недостаточность метаболических реакций митохондриального компартмента также характеризуется снижением активности вспомогательной дегидрогеназной реакции НАДФИЦДГ. У больных этой группы выявляется снижение активности ГР, которая отражает снижение перекисных процессов в клетках крови у больных в терминальной стадии хронического миелолейкоза.

При исследовании состояния метаболического статуса лимфоцитов крови у больных ХЛ установлено, что на всех стадиях заболевания снижается активность ферментов ЛДГ, НАДФИЦДГ, МДГ, НАДИЦДГ, НАДН-ЛДГ относительно контрольных значений (табл. 2). У больных в развернутой стадии ХЛ дополнительно снижается активность НАДГДГ, а у больных в терминальной стадии – ГЗФДГ, НАДФМДГ, НАДН-МДГ и НАДН-ГДГ относительно контрольных показателей.

У больных в развернутую стадию ХЛ снижена интенсивность гликолиза и так же, как у больных ХМ, по-видимому, уменьшен уровень концентрации интермедиаторов для цикла трикарбоновых кислот, за счет снижения активности фермента

ТАБЛИЦА 2. АКТИВНОСТЬ НАД(Ф)-ЗАВИСИМЫХ ДЕГИДРОГЕНАЗ В ЛИМФОЦИТАХ В КРОВИ У БОЛЬНЫХ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ХЛ (МЕ, C₂₅-C₇₅)

Показатели	Контроль, n = 118		Развернутая, n = 26		Терминальная, n = 13	
	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅
Г6ФДГ	4,32	0,90-13,87	1,90	0,00-15,13	2,17	0,09-7,28
ГЗФДГ	0,63	0,00-1,96	0,00	0,00-0,10	0,00	0,00-0,02
ЛДГ	38,43	14,9-98,98	3,44	0,00-7,80	3,21	0,04-5,02
			p ₁ < 0,001		p ₁ < 0,001	
НАДФМДГ	2,84	0,64-12,75	1,07	0,11-15,20	0,38	0,00-8,72
НАДФГДГ	0,59	0,00-2,56	0,50	0,00-1,27	0,14	0,02-1,24
					p ₁ < 0,05	
НАДФИЦДГ	33,33	14,7-63,63	1,24	0,36-3,54	1,30	0,34-2,52
МДГ	70,43	18,0-144,3	15,49	0,83-42,32	30,65	14,04-36,04
			p ₁ < 0,001		p ₁ < 0,05	
НАДГДГ	5,64	0,47-16,76	1,06	0,00-4,80	2,96	1,17-8,20
НАДИЦДГ	4,05	1,00-12,93	0,00	0,00-1,38	0,02	0,00-0,64
			p ₁ < 0,001		p ₁ < 0,001	
НАДН-ЛДГ	72,87	8,56-196,3	4,54	0,00-108,87	0,34	0,00-19,38
НАДН-МДГ	128,37	35,5-357,1	109,8	22,01- 188,21	45,43	0,72-82,53
					p ₁ < 0,01	
ГР	19,64	1,67-113,6	20,32	0,00-56,86	17,54	1,24-24,34
НАДН-ГДГ	49,94	13,93-83,4	25,62	9,07-73,76	6,42	1,68-19,46
НАДФН-ГДГ	52,87	29,59-84,9	57,52	39,07-133,57	57,52	48,90-113,57
					p ₁ < 0,05	

ЛДГ. При этом ингибирование ферментативных реакций гликолиза в лимфоцитах крови больных ХЛ осуществляется на терминальных реакциях (снижена активность анаэробной реакции ЛДГ). Понижение уровней активности НАДИЦДГ и МДГ отражают снижение интенсивности субстратного потока по лимонному циклу [1]. У больных в развернутой стадии ХЛ имеются недостаточность митохондриального транспорта, и нарушения взаимосвязей между реакциями цикла Кребса и процессами аминокислотного обмена.

Понижение интенсивности переноса продуктов липидного катаболизма на окислительно-восстановительные реакции гликолиза у больных данной группы характеризуется снижением уровня активности фермента ГЗФДГ. В лимфоцитах крови сохраняется пониженная активность НАДФМДГ, что позволяет предположить ингибирование процессов липидного анаболизма.

Подобное состояние реакций стимулирует анаэробное окисление глюкозы и в конечном итоге ингибирует гликолиз (снижены ЛДГ и НАДН-МДГ).

При этом ингибирование ферментативных реакций гликолиза в лимфоцитах крови больных развернутой стадии ХЛ осуществляется на терминальных реакциях (характеризуется пониженными уровнями активности НАДН-ЛДГ). Снижение наработки пирувата в гликолизе может быть компенсировано уровнем активности аэробной реакции ЛДГ. Однако в лимфоцитах крови активность аэробной реакции ЛДГ снижается, в результате чего в митохондриальный компартмент поступает пониженное количество данного субстрата, что ингибирует ферментативные реакции цикла трикарбоновых кислот [1, 4, 5]. Действительно, пониженные уровни активности НАДИЦДГ и МДГ характеризуют снижение интенсивности субстратного потока по лимонному

ТАБЛИЦА 3. МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ХМ И ХЛ

Стадия	Метаболические особенности лимфоцитов ХМ	Метаболические особенности лимфоцитов ХЛ
Развернутая	Уменьшение интенсивности метаболических процессов и снижение антиоксидантной защиты клеток (наибольшие нарушения в углеводном обмене): - снижение ПФП; - снижение митохондриального транспорта; - снижение гликолиза; - снижение метаболизма лимонной кислоты; - снижение перекисных процессов в клетке	Уменьшение интенсивности метаболических процессов (наибольшие нарушения в углеводном и белковом обменах): - снижение митохондриального транспорта; - снижение гликолиза; - снижение метаболизма лимонной кислоты; - нарушение взаимосвязей цикла Кребса с аминокислотным обменом
Терминальная	Уменьшение интенсивности метаболических процессов и снижение антиоксидантной защиты клеток (наибольшие нарушения в углеводном и жировом обменах): - снижение ПФП; - снижение митохондриального транспорта; - снижение гликолиза; - снижение метаболизма лимонной кислоты; - снижение перекисных процессов в клетке; - снижение липидного катаболизма	Уменьшение интенсивности метаболических процессов (наибольшие нарушения в углеводном, жировом и белковом обменах): - снижение митохондриального транспорта; - снижение гликолиза; - снижение метаболизма лимонной кислоты; - снижение липидного катаболизма; - снижение липидного анаболизма; - нарушения взаимосвязей цикла Кребса и аминокислотного обмена

циклу. Недостаточность метаболических реакций митохондриального компартмента также определяется снижением активности вспомогательной дегидрогеназной реакции НАДФИЦДГ. У больных этой группы имеются нарушения взаимосвязей между реакциями цикла Кребса и процессами аминокислотного обмена (снижение активности НАДН-ГДГ) [1, 4, 5, 6, 7].

Заключение

Проведенное нами исследование по изучению метаболической активности лимфоцитов крови больных ХМ и ХЛ в зависимости от стадии заболевания показало, что у всех больных наблюдается нарушение метаболического статуса лимфоцитов в виде уменьшения интенсивности метаболических процессов (табл. 3). Однако нарушения у больных ХМ более значительные, так как дополнительно присоединяется снижение антиоксидантной защиты клеток. По мере прогрессирования заболевания нарастают метаболические изменения, так, если в развернутой стадии ХМ изменения отмечаются только в углеводном обмене, то в терминальной стадии — в углеводном и жировом обменах. Аналогичные изменения в системе внутриклеточного метаболизма лимфоцитов выявляются и у больных ХЛ. Так, в развернутую стадию наибольшие метаболические нарушения регистрируются в углеводном и белковом обменах, а в терминальную стадию — в углеводном, жировом и белковом обменах.

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 т. Т. 1. — М.: Ньюдиамед, 2002. — 280 с.
4. Доронин В.А. Текущие аспекты патогенеза и диагностики хронического лимфоидного лейкоза (обзор литературы) // Клинич. лаб. диагностика. — 2003. — № 4. — С. 24, 33-40.
5. Земсков А.М., Караулов А.В., Земсков В.М. Комбинированная иммунокоррекция. — М.: Наука, 1994. — 260 с.
6. Савченко А.А., Сунцова Л.Н. Высококчувствительное определение активности дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови биологическим методом // Лаб. дело. — 1989. — № 11. — С. 23-25.
7. Савченко А.А., Шакина Н.А., Куртасова Л.М. Особенности иммунологических показателей крови и метаболических параметров лимфоцитов у больных гепатитами А и В // Журн. инфекционной патологии. — 1997. — Т. 4, № 4. — С. 24-27. Rai K.R., Dohner H., Keating M.J., Montserrat E. Chronic lymphocytic leukemia: case-based session/Process Citation. Hematology. — 2001. — P. 140-156.
8. Fayad L., Keating M.J., Reuben J.M. Kurzrock interleukin-10 levels in chronic lymphocytic leukemia: correlation with phenotypic characteristics

and outcome // Blood. — 2001. — Vol. 97, N 1. — P. 256-263.

9. Kantarjian H.M., Brien S.O., Cortes J. Treatment of accelerated phase of philadelphia chromosome positive chronic myeloid leukemia (Ph+ CML AP) with imatinib mesilate (STI 571) // Hematology. — 2001. — Orlando, Florida. — Abst. 594.

10. Kumas Sotiris, Semenova E.A., Turkina A.G., Zakharova A.V., Domracheva E.V., Khoroshko N.D.,

Frank G.A. Myelofibrosis in patients with chronic myeloid leukemia treated with interferon-alpha // Arkh. Patol. — 2003. — Vol. 65, N 4. — P. 9-12.

11. Nakamura M., Arai T., Magori E. Decrease in malate dehydrogenase activities in peripheral leucocytes of type 1 diabetic dogs // Res. Vet. Sci. — 2003. — Vol. 74, N 2. — P. 183-185.

поступила в редакцию 26.02.2007

принята к печати 13.07.2007