

УДК 616—006:612.112+616.155.3—076.3

В. А. МКРТЧЯН, А. М. ГАЛСТЯН, А. С. ЗУРАБЯН,
 С. П. ДЖАНДЖАПАНЯН, Л. Г. СЕВУНЦ

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕАКЦИЙ ТОРМОЖЕНИЯ МИГРАЦИИ И БЛАСТОИДНОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ДЛЯ ИНДИКАЦИИ ОПУХОЛЕВОЙ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЗАМЕДЛЕННОГО ТИПА

Исследовалась возможность формирования замедленной аллергии у больных раком прямой кишки и выявление ее с помощью реакции торможения миграции и бластоидной трансформации лейкоцитов периферической крови.

Результаты опытов показали, что добавление аутологичного опухолевого экстракта к культуре клеток крови сопровождалось статистически достоверным повышением процента макрофагов и бластов. Такая же картина, но несколько менее выраженная, наблюдалась при добавлении эмбрионального антигена.

Данные вышеуказанных реакций в комплексе с другими клинико-рентгенологическими методами исследований могут быть полезными в диагностике злокачественных новообразований прямой кишки.

За последние годы достигнуты значительные успехи в области изучения клеточной гиперчувствительности злокачественного роста как в эксперименте, так и в онкологической практике [3, 4, 7, 8, 9]. В частности, показано, что лимфоциты мышей с индуцированной опухолью оказывают выраженное цитотоксическое действие на опухолевые клетки и подавляют образование колоний этих клеток. С другой стороны, под влиянием опухолевых антигенов происходит торможение миграции лейкоцитов из капиллярных трубок *in vitro*, а также возникает положительная кожная реакция замедленного типа при внутрикожном введении выделенного аутологичного антигена у больных раком молочной железы.

Исходя из вышесказанного, мы задались целью выяснить: формируется ли клеточная гиперчувствительность у больных раком прямой кишки, и возможно ли это выявить с помощью реакции бласттрансформации лимфоцитов периферической крови и торможения миграции макрофагов.

Материал и методика

Клинический материал был разделен на 3 группы. В I группу вошли 20 больных с предварительно установленным диагнозом: рак прямой кишки; во II—10 пациентов с различными хроническими заболеваниями прямой кишки незлокачественной природы; в III—10 практически здоровых лиц.

Диагноз: рак прямой кишки был подтвержден эндоскопическим и патологическим исследованиями биопсированного материала или удаленных препаратов. У 12 из 20 больных имелась II стадия, у 7—III, а у одной больной—IV стадия развития опухолевого процесса. Больные были в возрасте: от 41 до 50 лет—14, от 51 до 60 лет—6 больных. Мужчин было 7, женщин—13.

Материалом служила гепаринизированная венозная кровь в объеме 10—15 мл.

Реакцию бласттрансформации лимфоцитов ставили по методике, описанной Н. И. Брауде и И. Л. Гольдман [2], а тест торможения миграции макрофагов—по Соборг и Бендсен [9]. Антигенами служили гомогенизированная ткань здоровой прямой кишки, гомогенизированная ткань прямой кишки, полученная после операции, ткань толстого кишечника двухмесячного эмбриона человека.

Для приготовления антигена ткань гомогенизировали в растворе Хенкса по Андерсон и др. [7], после чего гомогенат держали при $+4^{\circ}$ в течение ночи, а затем центрифугировали 20 мин при 1500 об/мин. Количество белка в надосадочной жидкости определяли по Лоури. Антиген к культуральной среде добавляли из расчета 100—150 мкг/мл. Во всех случаях клетки крови инкубировали с аутологичным антигеном, эмбриональным антигеном и без него (контроль). В окрашенных препаратах подсчитывали количество бластов, малых лимфоцитов, макрофагов и выделяли процентное соотношение на 500 подсчитанных клеток. Индекс миграции (ИМ) подсчитывали по формуле [9]: $ИМ = \frac{M_x}{M_o}$, где M_x —площадь зоны миграции лейкоцитов в присутствии антигена, а M_o —без антигена.

Реакция считалась положительной в тех случаях, когда процент бластов был выше 5, а ИМ—меньше 0,8.

Результаты опытов

У больных I группы инкубирование взвеси лейкоцитов с аутологичным опухолевым антигеном сопровождается трансформацией лимфоцитов. Они в основном превращались в макрофаги и бластоподобные клетки. При этом наблюдалось достоверное понижение процента малых лимфоцитов и повышение процента макрофагов и бластов ($P < 0,01$) по сравнению с контролем и II группой. Такая же картина, но несколько менее выраженная, наблюдалась при добавлении в культуру эмбрионального антигена ($P < 0,05$). У больных II группы изменений по сравнению с контролем во всех вариантах опыта не отмечалось. У практически здоровых лиц (III гр.) во всех случаях, включая опыты с использованием антигенов, основную часть клеток составляли лимфоциты и макрофаги. В отдельных препаратах обнаруживались единичные переходные к бластам клетки (табл.).

Результаты опытов по тесту торможения миграции макрофагов соответствовали данным реакции бласттрансформации. Так, в группах

Т а б л и ц а

Влияние различных антигенов на трансформацию лимфоцитов *in vitro* у больных раком прямой кишки, хроническим колитом и у здоровых лиц

Группы	Число обследований	Типы клеток	Без антигена	Эмбриональный антиген	Антиген аутологичной опухоли
I	20	бласты макрофаги лимфоциты	$1,62 \pm 0,22$ $20,3 \pm 0,4$ $78,1 \pm 2,6$	$4,4 \pm 1,2$ $67,2 \pm 2,1$ $28,2 \pm 2,0$	$12,1 \pm 2,3$ $65,5 \pm 3,2$ $16,4 \pm 1,6$
II	10	бласты макрофаги лимфоциты	$0,82 \pm 0,09$ $18,2 \pm 0,7$ $80,6 \pm 2,8$	$0,82 \pm 0,09$ $13,2 \pm 0,68$ $85,5 \pm 1,2$	$0,42 \pm 0,06$ $4,5 \pm 0,14$ $95,6 \pm 3,22$
III	10	бласты макрофаги лимфоциты	$0,32 \pm 0,06$ $19,2 \pm 0,6$ $81,3 \pm 1,9$	$0,61 \pm 0,08$ $17,5 \pm 0,9$ $81,9 \pm 2,3$	$0,32 \pm 0,06$ $15,3 \pm 1,1$ $84,4 \pm 2,5$

больных с хроническими заболеваниями прямой кишки и у практически здоровых лиц при добавлении вышеназванных антигенов, как правило, ИМ был равен 1 (рис. 1). А аутологичный опухолевый антиген вызывал торможение миграции (в 12 случаях ИМ был $<0,65$, а в 8 $<0,8$) у больных раком.

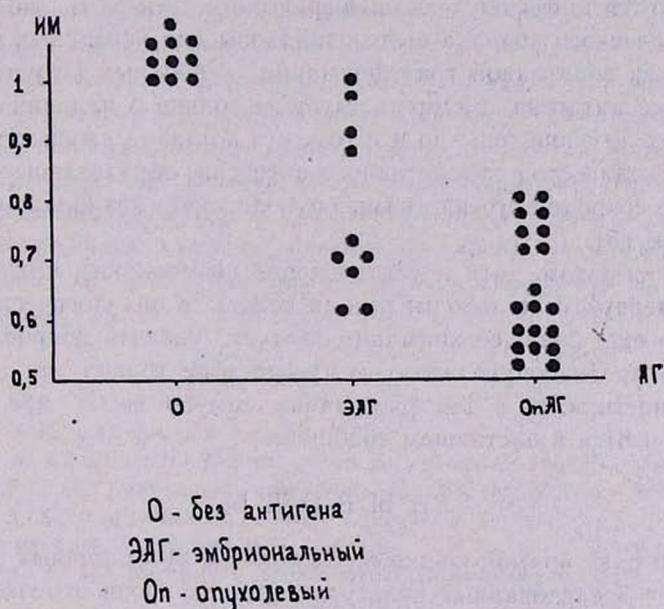


Рис. 1. Вариации ИМ в группе больных раком прямой кишки под воздействием различных антигенов (АГ) и без них.

Эмбриональный антиген вызывал менее четкий эффект. У 12 больных ИМ был $<0,75$, у 4 $<0,95$ и также у 4 $>0,95$.

Обсуждение

Обобщая литературные данные по антиопухолевому иммунитету, Р. М. Радзиховская [6] приходит к заключению, что основная роль в

механизме антиопухолевого иммунитета принадлежит сенсibilизированным лимфоцитам. Такая точка зрения тем более вероятна, что именно лимфоциты являются первыми клетками, которые раньше остальных элементов иммунокомпетентной системы входят в иммунологический конфликт с различными антигенами [1]. При этом обязательным условием является возможность контакта антиген-чувствительных лимфоцитов с опухолевыми антигенами. В условиях поставленного опыта специфическая сенсibilизация лимфоцитов проявлялась образованием бластоцитов и ингибцией подвижности клеток-индикаторов (макрофагов).

Если положительные реакции под воздействием аутологичных опухолевых антигенов связываются с появлением опухолевой специфичности, т. е. образованием антигенного профиля, уникального для рака прямой кишки, то наблюдаемый аналогичный, но менее интенсивный эффект при воздействии эмбриональным антигеном дает основание допустить, что в данном случае имеет место и антигенная реверсия.

В группе больных с хроническими заболеваниями прямой кишки и у здоровых лиц реакция не наблюдалась, что, по-видимому, связано только с отсутствием опухоль-специфических антигенов, ибо все условия методического порядка были одинаковы для указанных трех групп.

Феномен спонтанной трансформации у больных I группы при инкубации без антигена свидетельствует не только о наличии сенсibilизированных лимфоцитов, но и о том, что в плазме крови присутствует некоторое количество гомологичного антигена, образовавшегося либо в результате секреции его клетками опухоли, либо катаболизма опухолевых клеток [5].

Таким образом, хотя и установление возможности индикации клеточной гиперчувствительности весьма важно в онкологической практике, однако еще большее внимание следует уделить вопросам раннего выявления противоопухолевого иммунитета не только для своевременной диагностики, но и для стимуляции иммуногенеза, предпосылки к которой имеются в настоящем сообщении.

В Ы В О Д Ы

1. При раке прямой кишки под влиянием аутологичных опухолевых антигенов в исследованных культурах клеток крови отмечалось статистически достоверное повышение процента бластов и макрофагов по сравнению с больными хроническими заболеваниями прямой кишки и практически здоровыми лицами. Такая же, но менее выраженная картина наблюдалась при добавлении в культуру лейкоцитов *in vitro* эмбрионального антигена.

2. При постановке реакции торможения миграции в группе практически здоровых лиц и у больных хроническими заболеваниями прямой кишки ИМ был ~1 независимо от характера антигенов. У больных раком прямой кишки под действием использованных антигенов наблюдалось торможение миграционной способности макрофагов.

3. Реакции бласттрансформации лимфоцитов и угнетения миграции макрофагов, наряду с другими клинико-рентгенологическими методами исследований, можно применять в онкологической практике как дополнительные диагностические методы.

Институт кардиологии МЗ Армянской ССР,
Армянский институт рентгенологии и онкологии

Поступила 3/III 1974 г.

Վ. Ա. ՄԿՐՏՅԱՆ, Հ. Մ. ԴԱՍՏԱՆ, Ա. Ս. ԶՈՒՐԱՅԱՆ, Ս. Պ. ԺԱՆՃԱՊԱՆՅԱՆ, Լ. Գ. ՍԵՎՈՒՆՅ

ՊԵՐԻՖԵՐԻԿ ԱՐՅԱՆ ԼԵՅԿՈՑԻՏՆԵՐԻ ՇԱՐԺՈՒՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՀՆՇՄԱՆ ԵՎ
ԲԼԱՍՏՈՒԴ ՌԵԱԿՏԻՎՆԵՐԻ ՕԳՏԱԳՈՐԾՈՒՄԸ ԴԱՆԴԱՂԵՑՎԱԾ ՁԵՎԻ
ՈՒՌՈՒՑՔԱՅԻՆ ԴԵՐՉԳԱՅՈՒԹՅԱՆ ՀԱՅՏՆԱՐԵՐՄԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ

Ա մ փ ո լ ի ո լ մ

Ուղիղ աղիի շարորակ ուռուցքով տառապող անձանց մոտ արյան լիմֆոցիտների աուտոսենսիբիլիզացիան հայտնաբերելու փորձեր են կատարված: Այդ նպատակով օգտագործված լիմֆոցիտների բլաստոդեզին տրանսֆորմացիայի և մակրոֆագների միգրացիայի ճնշման ռեակցիաների արդյունքները ցույց են տվել, որ իրոք այդ պաթոլոգիական վիճակում ձևավորվում է դանդաղեցված ձևի ուռուցքային գերզգայություն, որի հայտնաբերումը ըստ մեր կարծիքի, կարող է իր ուրույն տեղը գրավել ուղիղ աղիի քաղցկեղի ախտորոշման կլինիկո-ռենտգենոլոգիական մյուս եղանակների շարքում:

Ուղիղ աղիի խրոնիկական ոչ շարորակ բնույթի հիվանդությունների ժամանակ, ինչպես նաև առողջ մարդկանց մոտ, այդ ռեակցիայի արդյունքները եղել են բացասական:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бернер М. Клеточная иммунология. М., 1971.
2. Брауде Н. И., Гольдман И. Л. Успехи современ. биологии, 1969, 67, 3, стр. 432.
3. Брондз Б. Д. В кн.: Вирусы, рак, иммунитет. М., 1965, стр. 352.
4. Брондз Б. Д. Журнал общей биол., 1969, 3, 2, стр. 208.
5. Дэй Ю. Иммунохимия рака. М., 1966.
6. Радзиховская Р. М. Некоторые закономерности противоопухолевого иммунитета. М., 1971.
7. Anderson V., Bjerrum O., Bendixen T., Dissing J. Int. J. Cancer, 1970, 5, 3, 357.
8. Old L. J., Boyse E. A. Ann. Rev. Med., 1964, 15, 167.
9. Soborg M., Bendixen G. Acta med. Scand., 1967, 181, 2, 247.