

Л.Я. Дубей

Інститут патології крові
та трансфузійної медицини
АМН України, Львів, Україна

Ключові слова: гостра
лімфобластна лейкемія,
діти, програмна терапія,
довготривала ремісія,
НК-клітини.

ДИНАМІКА РІВНЯ НК-КЛІТИН У ДІТЕЙ З ГОСТРОЮ ЛІМФОБЛАСТНОЮ ЛЕЙКЕМІЄЮ НА РІЗНИХ ЕТАПАХ ЛІКУВАННЯ ТА В ПЕРІОД ДОВГОТРИВАЛОЇ РЕМІСІЇ

Резюме. Проведено дослідження природних клітин-кілерів (НК-клітин) периферичної крові у 87 дітей, хворих на гостру лімфобластну лейкемію (ГЛЛ), під час програмного лікування та у різні терміни довготривалої ремісії. Виявлено значне зниження рівня НК-клітин під час поліхіміотерапії з приводу ГЛЛ. Тенденція до зростання популяції НК-клітин виявлена при довготривалій (3–5 років) ремісії, проте їх кількість була значно меншою порівняно з такою в контрольній групі, що свідчить про порушення регенерації цієї ланки імунітету.

ВСТУП

Природні клітини-кілери (НК-клітини, CD16/56⁺-лімфоцити) — одна із ланок природного імунітету. Клітинами-мішенями для них є практично усі ядромісні клітини. Однак найвищу активність НК-клітини проявляють відносно пухлинних та уражених вірусом клітин [3–5].

Більшість дослідників вважає, що роль НК-клітин полягає у захисті організму від розвитку пухлин та інфекційних захворювань. Тобто вони виконують функцію імунного нагляду [2, 6]. В експериментах на тваринах доведено, що пухлини, чутливі до дії НК-клітин, гірше розвиваються при їх високій активності, краще — при низькій [3, 6]. Активність НК-клітин залежить від особливостей пухлинних клітин та конкретних умов, за яких розвивається патологічний процес [1].

Таким чином, актуальним є вивчення ролі НК-клітин в елімінації пухлинного клону при гострій лімфобластній лейкемії (ГЛЛ) у дітей.

Мета нашого дослідження — виявлення рівня пригнічення НК-клітин під час проведення сучасної програмної терапії з приводу ГЛЛ у дітей та з'ясування їх процесу відновлення в різні терміни довготривалої ремісії.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Проаналізовано й узагальнено результати 163 досліджень, виконаних у 87 дітей з ГЛЛ, які лікувалися у гематологічному відділенні Львівської обласної дитячої спеціалізованої клінічної лікарні. Частину хворих обстежували декілька разів на різних етапах лікування та в різні терміни довготривалої ремісії. Пацієнтів за віком розподілили на підгрупи, в яких визначали рівень НК-клітин: 1–5 років (n = 23), 6–10 років (n = 37) і 11–14 років (n = 27).

Визначення НК-клітин у периферичній крові здійснювали в умовах відсутності бластних клітин за допомогою лазерної проточної цитофлюорометрії («Becton Dickinson», США) з використанням панелі МкАТ до CD16/56 (anti-CD16/56) виробництва «Becton Dickinson» (США) та «Dako Cytomation» (Данія). Абсолютний рівень НК-клітин у крові визначали за їх відсотком відповідно до абсолютної кількості лімфоцитів, яку отримували при диференційному підрахунку лейкоцитів.

До контрольної групи увійшли практично здорові діти віком від 1 до 14 років (n = 83) без порушень клітинного імунітету, які не хворіли на ГЛЛ.

Статистичну обробку результатів досліджень виконали за допомогою програми Excel-7 з пакета Microsoft Office-97 з використанням варіаційного та кореляційного аналізу.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Рівень НК-клітин у дітей з ГЛЛ на різних етапах лікування та в різні терміни довготривалої ремісії становив у середньому $0,04 \pm 0,03$ Г/л і був значно нижчим порівняно з таким у контрольній групі ($0,39 \pm 0,03$ Г/л, $p < 0,05$ (табл. 1, 2)). Зокрема перед початком консолідаційного курсу програмної терапії рівень НК-клітин у середньому становив $0,08 \pm 0,03$ Г/л. Найнижчий показник виявили у дітей віком 1–5 років — $0,05 \pm 0,02$ Г/л, дещо вищий — у 6–10-річних дітей — $0,08 \pm 0,03$ Г/л та підлітків 11–14 років — $0,10 \pm 0,04$ Г/л. На етапі реіндукційного курсу цитостатичного лікування (II протокол) відзначали тенденцію до зростання показників вмісту НК-клітин. Так, у дітей віком 1–5 років їх кількість становила в середньому $0,09 \pm 0,02$ Г/л, 6–10 років — $0,10 \pm 0,04$ Г/л, 11–14 років — $0,12 \pm 0,04$ Г/л. Незважаючи на те що на цьому етапі лікування показники рівня НК-лімфоцитів вперше зросли, вони не досягли нижньої межі норми і значно відрізня-

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

лися від таких у контрольній групі. При завершенні інтенсивної фази програмного лікування дітей з ГЛЛ (перед початком підтримувальної терапії) ми виявили зниження показників CD16/56⁺-лімфоцитів, які досягли рівня, встановленого до лікування. Найнижчими виявилися показники НК-клітин у дітей віком 1–5 років, які в середньому становили 0,04 ± 0,01 Г/л. У 6–10-річних дітей абсолютна кількість їх в середньому становила 0,06 ± 0,02 Г/л. Рівень НК-лімфоцитів у підлітків 11–14 років мало відрізнявся від такого в інших підгрупах і в середньому становив 0,08 ± 0,02 Г/л. На особливу увагу заслуговує факт, що після завершення програмної терапії з приводу ГЛЛ у дітей відзначали тенденцію до зростання кількості CD16/56⁺-лімфоцитів. Майже у всіх підгрупах дітей ці показники були однаковими і в середньому становили 0,13 ± 0,04 Г/л. Зокрема, у дітей віком 1–5 років рівень НК-клітин становив 0,15 ± 0,04 Г/л, 6–10 років в середньому 0,13 ± 0,05 Г/л. У підлітків віком 11–14 років абсолютна кількість CD16/56⁺-лімфоцитів виявилася найнижчою на даному етапі лікування і в середньому становила 0,12 ± 0,03 Г/л.

Під час довготривалої ремісії динаміка змін показників НК-клітин у дітей з ГЛЛ залежала від її терміну. Ми виявили загальну тенденцію до збільшення кількості лімфоцитів цієї групи. Так, у групі трирічної ремісії вміст CD16/56⁺-лімфоцитів у середньому становив 0,17 ± 0,04 Г/л з індивідуальними коливаннями від 0,11 ± 0,03 Г/л до 0,22 ± 0,02 Г/л. Найвищими виявилися показники НК-клітин у ді-

тей віком до 5 років — 0,20 ± 0,03 Г/л, дещо нижчими 6–10 років — 0,17 ± 0,04 Г/л, найнижчими — 11–14 років — у середньому 0,14 ± 0,06 Г/л. При 3–5-річній ремісії продовжується зростання кількості НК-клітин. Найвищим цей показник був у дітей 11–14 років: у середньому 0,33 ± 0,02 Г/л. У дітей до 5 років абсолютна кількість CD16/56⁺-лімфоцитів була незначно вищою порівняно з попередньою досліджуваною групою дітей із середнім значенням 0,19 ± 0,6 Г/л. У 6-10-річних дітей середній рівень НК-лімфоцитів виявився найнижчим серед усіх підгруп дітей у період довготривалої ремісії і в середньому становив 0,12 ± 0,03 Г/л. При ремісії понад 5 років середній рівень НК-клітин був найвищим — в середньому 0,28 ± 0,04 Г/л. Зокрема, у 6–10-річних дітей абсолютна кількість CD16/56⁺-лімфоцитів становила 0,25 ± 0,02 Г/л, а 11–14-річних — 0,30 ± 0,06 Г/л. Слід зазначити, що у жодній підгрупі дітей як на етапі лікування, так і у різні терміни довготривалої ремісії абсолютна кількість НК-клітин не досягла нижньої межі норми і достовірно відрізнялася від такої у дітей контрольної групи (рисунк).

Відомо, що НК-клітини характеризуються здатністю до спонтанного знищення деяких пухлинних, інфікованих вірусами та мікробних клітин [1, 4]. Існує багато факторів, які можуть посилювати цю властивість, переважно збільшуючи при потребі рівень дії НК-клітин на нечутливі або слабо чутливі пухлинні клітини [3, 5].

Таблиця 1

Показники НК-клітин у вікових підгрупах дітей з ГЛЛ на різних етапах лікування (M ± m)

Показник	Група	Консолідація			Реіндукція			Підтримувальна терапія			Закінчення терапії		
		1–5 років	6–10 років	11–14 років	1–5 років	6–10 років	11–14 років	1–5 років	6–10 років	11–14 років	1–5 років	6–10 років	11–14 років
Лейкоцити, Г/л	основна	2,31 ± 0,17*	2,93 ± 0,21*	2,81 ± 0,24*	2,36 ± 0,17*	2,47 ± 0,19*	2,43 ± 0,17*	2,31 ± 0,21*	2,52 ± 0,19*	2,53 ± 0,17*	4,91 ± 0,19*	4,41 ± 0,17*	5,11 ± 0,24
	конт-рольна	7,11 ± 0,91	7,22 ± 0,45	6,91 ± 0,34	7,11 ± 0,91	7,22 ± 0,45	6,91 ± 0,34	7,11 ± 0,91	7,22 ± 0,45	6,91 ± 0,34	7,11 ± 0,91	7,22 ± 0,45	6,91 ± 0,34
Лімфоцити, Г/л	основна	1,06 ± 0,09*	0,84 ± 0,07*	1,08 ± 0,06*	2,24 ± 0,10	3,16 ± 0,12*	3,02 ± 0,11*	1,11 ± 0,07*	0,96 ± 0,08	1,02 ± 0,12	2,21 ± 0,09	1,98 ± 0,12*	2,43 ± 0,14*
	конт-рольна	2,32 ± 0,04	2,63 ± 0,05	2,38 ± 0,02	2,32 ± 0,04	2,63 ± 0,05	2,38 ± 0,02	2,32 ± 0,04	2,63 ± 0,05	2,38 ± 0,02	2,32 ± 0,04	2,63 ± 0,05	2,38 ± 0,02
CD16/56 ⁺ -клітини, %/Г/л	основна	5,0 ± 0,4*/0,05 ± 0,02*	7,3 ± 0,6*/0,08 ± 0,03*	8,7 ± 0,8*/0,10 ± 0,04*	8,3 ± 0,6*/0,09 ± 0,02*	9,0 ± 0,8*/0,10 ± 0,04*	9,2 ± 0,7*/0,12 ± 0,04*	4,0 ± 0,3*/0,04 ± 0,01*	5,7 ± 0,3*/0,06 ± 0,02*	7,6 ± 0,5*/0,08 ± 0,02*	16,0 ± 1,2*/0,15 ± 0,04*	13,47 ± 1,4/0,13 ± 0,05*	12,8 ± 1,2/0,12 ± 0,03*
	конт-рольна	13,2 ± 0,4/0,40 ± 0,02	13,1 ± 0,4/0,38 ± 0,04	13,4 ± 0,5/0,39 ± 0,03	13,2 ± 0,4/0,40 ± 0,02	13,1 ± 0,4/0,38 ± 0,04	13,4 ± 0,5/0,39 ± 0,03	13,2 ± 0,4/0,40 ± 0,02	13,1 ± 0,4/0,38 ± 0,04	13,4 ± 0,5/0,39 ± 0,03	13,2 ± 0,4/0,40 ± 0,02	13,1 ± 0,4/0,38 ± 0,04	13,4 ± 0,5/0,39 ± 0,03

* Різниця показників порівняно з такими у дітей контрольної групи достовірна (p < 0,05).

Таблиця 2

Показники НК-клітин у вікових підгрупах дітей з ГЛЛ у різні терміни довготривалої ремісії (M ± m)

Показник	Група	Ремісія (тривалість, років)									
		< 3					> 5				
		1–5 років	6–10 років	11–14 років	1–5 років	6–10 років	11–14 років	6–10 років	11–14 років		
Лейкоцити, Г/л	основна	4,90 ± 0,14*	5,30 ± 0,31*	5,20 ± 0,20	4,60 ± 0,12*	5,40 ± 0,22*	6,55 ± 0,13	4,70 ± 0,14*	6,30 ± 0,25		
	контрольна	7,11 ± 0,91	7,22 ± 0,45	6,91 ± 0,34	7,11 ± 0,91	7,22 ± 0,45	6,91 ± 0,34	7,22 ± 0,45	6,91 ± 0,34		
Лімфоцити, Г/л	основна	1,76 ± 0,03*	1,82 ± 0,04*	2,39 ± 0,05	2,07 ± 0,03*	2,05 ± 0,02	2,55 ± 0,03	3,05 ± 0,04*	4,03 ± 0,05*		
	контрольна	2,32 ± 0,04	2,63 ± 0,05	2,38 ± 0,02	2,32 ± 0,04	2,63 ± 0,05	2,38 ± 0,02	2,63 ± 0,05	2,38 ± 0,02		
CD16/56 ⁺ -клітини, %/Г/л	основна	19,0 ± 0,2*/0,20 ± 0,03*	18,50 ± 0,09*/0,17 ± 0,04*	17,00 ± 0,08*/0,14 ± 0,06*	11,00 ± 0,16/0,19 ± 0,06*	6,00 ± 0,20*/0,12 ± 0,03*	9,30 ± 0,20*/0,33 ± 0,02	5,80 ± 0,80*/0,25 ± 0,02	6,50 ± 0,30*/0,30 ± 0,06		
	контрольна	13,2 ± 0,4/0,40 ± 0,02	13,1 ± 0,4/0,38 ± 0,04	13,4 ± 0,5/0,39 ± 0,03	13,2 ± 0,4/0,40 ± 0,02	13,1 ± 0,4/0,38 ± 0,04	13,4 ± 0,5/0,39 ± 0,03	13,1 ± 0,4/0,38 ± 0,04	13,4 ± 0,5/0,39 ± 0,03		

* Різниця показників порівняно з такими у дітей контрольної групи достовірна (p < 0,05).

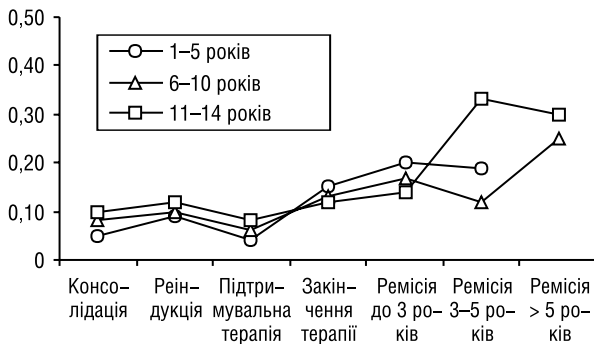


Рисунок. Динаміка змін показників CD16/56⁺-лімфоцитів у дітей з ГЛЛ

НК-клітини відіграють важливу роль у протиінфекційному імунітеті, зокрема при вірусних інфекціях [3, 5, 6]. Деякі автори описують посилений цитотоксичний вплив НК-клітин на заражені вірусом клітини за рахунок виділеного ними інтерферону. Однак CD16/56⁺-лімфоцити здатні еліминувати заражені вірусом клітини і без участі інтерферону [2, 3].

Рівень НК-клітин у хворих з онкологічною патологією залежить від особливостей пухлинного процесу та завантованості хвороби [2, 6]. Зміни їх кількості чи функції супроводжуються порушеннями інших компонентів імунної відповіді [1, 4, 5].

За нашими даними, виявлено зменшення кількості НК-клітин як під час проведення програмної терапії з приводу ГЛЛ, так і у період довготривалої ремісії. Зниження їх рівня часто корелювало з інфекційними ускладненнями, які виникали на фоні розладів інших ланок імунітету. Відновлення показників CD16/56⁺-лімфоцитів було неоднаковим і нелінійним.

ВИСНОВКИ

У пацієнтів з ГЛЛ впродовж усього періоду програмного лікування, після його завершення, а також в різні терміни довготривалої ремісії рівень НК-клітин був низьким і значно відрізнявся від такого у дітей контрольної групи. Лише у ранні терміни довготривалої ремісії з'явилася тенденція до зростання

абсолютної кількості CD16/56⁺-лімфоцитів, що продовжувалося і в більш пізні її періоди. Однак навіть у віддалені терміни довготривалої ремісії (> 5 років) рівень НК-клітин був низьким, що свідчить про порушення регенерації цієї ланки імунітету.

ЛІТЕРАТУРА

1. Билинський Б, Володько Н, Шпарик Я. Иммунологические механизмы естественной противоопухолевой резистентности. К: Наук думка, 1991. 246 с.
2. Сапин М, Энтинген Л. Иммунная система человека. М: Медицина, 1996. 304 с.
3. Якобсаяк М. Имунология. К: Нова книга, 2004. 660 с.
4. Stites DP, Terr AI, Tristram G. Medical immunology. Appleton an. Range, Stanfort, Connecticut. 1997. 900 p.
5. Virella G, Dekker M. Medical immunology. Marcel Dekker Inc 1998. 651 p.
6. Bradley J, Mc Cluskey J. Clinical immunology. London etc: Oxford University Press, 1997. 572 p.

CHANGES IN NK CELLS OF CHILDREN WITH ACUTE LYMPHOCYTIC LEUKEMIA AT VARIOUS TREATMENT STAGES AND TERMS OF LONG-TERM REMISSION

L. Y. Dubej

Summary. *Peripheral blood NK cells from 87 children with acute lymphocytic leukemia (ALL) were studied in the period of program treatment and in various periods of long-term remission. The level of NK cells was found to be considerably decreased during the polychemotherapy of ALL. The population of NK cells tended to increase in a long-term (3 to 5 years) remission of ALL; however, their number was considerably lower compared to the control group suggesting about deficiency in the regeneration of this link of the immunity.*

Key Words: acute lymphocytic leukemia, children, program treatment, long-term remission, NK cells.

Адреса для листування:

Дубей Л.Я.

79013, Львів, вул. Котляревського, 43, 1А