

ЗАВИСИМОСТЬ ПОДАВЛЕНИЯ МИГРАЦИИ ЛЕЙКОЦИТОВ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА ЭКСТРАКТАМИ ОПУХОЛЕЙ ОТ СТАДИИ ОПУХОЛЕВОГО ПРОЦЕССА

И. А. ПЕТУХОВ, Д. К. НОВИКОВ, А. П. ШМАКОВ

Кафедра госпитальной хирургии, отдел морфологии и иммунологии ЦНИЛ

Уже на раннем этапе опухолевого роста индунируется иммунная реакция организма на антигены опухоли. Выявление этой реакции может иметь диагностическое и прогностическое значение. В реакции подавления миграции лейкоцитов (РПМЛ) специфическая противоопухолевая сенсibilизация лейкоцитов выявляется при опухолях различных локализаций (59, 17, 60, 18, 186, 122, 178, 214, 222). Частота положительных реакций зависит от техники их постановки, от вида опухоли, угнетения иммунной реактивности больного растущей опухолью и по данным разных авторов колеблется от 30—60% (48, 186) до 80—91% (65, 222, 223).

Используя новую реакцию подавления миграции лейкоцитов (62), мы изучили зависимость противоопухолевой реактивности лейкоцитов больных раком желудка (РЖ) от стадии опухолевого процесса.

Методика. Антигенами служили водно-солевые экстракты гомогенизированных кусочков опухолей, удаленных во время операций и слизистой оболочки желудка того же больного, прилежащей к опухоли. Экстракты хранились в ампулах при -4°C . Их антигенная активность сохранялась не менее 6 месяцев. Антигены (10—30 мг белка в 1 мл) добавляли к суспензии лейкоцитов до конечной концентрации белка 1—0,01 мг/мл.

Из 7—10 мл взятой перед операцией гепаринизированной крови выделяли лейкоциты (62). Осадок лейкоцитов отмывали 2 раза средой 199 и разводили культуральной средой (среда 199 + 20% сыворотки или плазмы крови + по 100 ЕД/мл пенициллина и стрептомицина) до концентрации 3—10 млн/мл. К 7 равным частям каждой суспензии лейкоцитов, пригото-

ленной в среде с 20% плазмы крови опухоленосителя, сыворотки крови доноров IV группы крови или сыворотки крови крупного рогатого скота (СКРС), добавляли антигены (в контроле не добавляли): 1) аутологичного рака желудка; 2) аутологичной слизистой желудка; 3) аллогенного рака желудка (до 2—3 разных антигенов и смесь 2—3 антигенов); 4) аллогенной слизистой тех же больных; 5) опухолей других локализаций; 6) соответствующих им нормальных тканей. Полученными суспензиями лейкоцитов заполняли специальные капилляры (по 5 на каждую разновидность) и помещали их в лунки пластины, заполненные культуральной средой, на 18—24 часа при 37°C. После этого определяли индексы миграции лейкоцитов (ИМЛ) из капилляров путем подсчета числа клеток, вышедших из них (62), используя которые вычисляли индексы подавления миграции лейкоцитов (ИПМЛ) или стимуляции миграции лейкоцитов (ИСМЛ).
$$\text{ИПМЛ, ИСМЛ} = \frac{\text{ИМЛ в среде с антигеном}}{\text{ИМЛ в среде без антигена}} \times 100\%.$$
 Достоверность различий между ИМЛ определяли статистически.

Результаты исследования

Обследовано 95 больных РЖ I—IV ст., не подвергшихся химио- и лучевой терапии, и 110 контрольных больных (см. табл. 1, 2). Возраст больных — от 38 до 74 лет. Мужчин, больных РЖ, было 54, женщин — 41. У 56 больных РЖ опухоль локализовалась в дистальных отделах желудка (59%), у 25 — в теле желудка (26,3%), у 7 — в проксимальном отделе желудка (7,3%) и у 7 имелось тотальное поражение (7,3%). Неоперабельность больных IV ст. была установлена при пробной лапаротомии. У 28 больных РЖ I—IV ст. были дифференцированные формы рака, у 10 — менее дифференцированные, у 14 — недифференцированные, у 4 — смешанные формы, а у 4 — малигнизированные полипы.

Экстракты аутологичных опухолей подавляли миграцию лейкоцитов 1 из 2 больных РЖ I ст. как в среде с аутологичной плазмой, так и с СКРС или доноров IV группы крови. При РЖ II ст. специфическая сенсibilизация лейкоцитов в аутологичной системе выявлена у 3 из 4 обследованных (75%) в среде с СКРС или доноров IV группы крови и у 4 из 5 (80%) больных в среде с аутоплазмой. В группе больных III ст. опухолевого процесса подавление миграции лейкоцитов (ПМЛ) наблюдали соответственно у 17 из 26 (65%) и 10 из 25 (40%) больных.

Экстракты аутологичной слизистой оболочки желудка, прилежащей к опухоли, вызывали ПМЛ больных РЖ I ст. в 1 из 2 случаев, у больных РЖ II ст. такое ПМЛ наблюдали у 1 из 5 (20%) — в среде с аутологичной плазмой, а при РЖ III ст. — соответственно у 5 из 26 (19%) и 3 из 25 (12%) обследованных. Однако только в 3 случаях ПМЛ экстрактами аутологичной слизистой в среде с СКРС или доноров IV группы крови было выражено сильнее, чем экстрактами аутологичной опухоли. Следовательно, у больных РЖ, наряду с противоопухолевой сенсibilизацией к аутологичным опухолевым антигенам, выявляемой РПМЛ, наблюдается сенсibilизация к антигенам слизистой оболочки желудка, прилежащей к опухоли.

Антигены аллогенного рака желудка подавляли миграцию лейкоцитов 4 из 7 (57%) больных РЖ I ст. В среде с плазмой крови опухоленосителя и 6 из 7 (85%) — в среде с сывороткой доноров или СКРС. При РЖ II ст. ПМЛ наблюдали в 5 из 10 (50%) случаев при культивировании лейкоцитов в среде с аутологичной плазмой и в 8 из 10 (80%) случаев — в среде с сывороткой доноров IV группы крови или СКРС. У больных РЖ III ст. такое подавление миграции лейкоцитов отмечено соответственно у 12 из 39 (31%) больных в среде с аутологичной плазмой и 24 из 43 (56%) — в среде с контрольной сывороткой, а при РЖ IV ст. — у 9 из 31 (29%) и 10 из 35 (28,5%) больных. Приведенные данные демонстрируют прямую зависимость между степенью распространенности ракового процесса и возможностью выявления специфической противоопухолевой сенсibilизации лейкоцитов больных РЖ. При одновременном испытании нескольких различных антигенов РЖ чаще наблюдали аналогичный эффект, реже одни антигены подавляли миграцию лейкоцитов, а другие нет. В этом отношении имело преимущество использование пула антигенов. Плазма крови больных РЖ I—III ст. значительно уменьшала число положительных результатов реакции, чего не наблюдалось при РЖ IV ст. Однако, при РЖ IV ст. резко уменьшалось число положительных результатов реакции при культивировании лейкоцитов как в среде с аутоплазмой, так и в среде с СКРС или сывороткой доноров. Эти данные указывают на более глубокую и качественно иную степень угнетения реактивности при РЖ IV ст. Изменение реактивности лейкоцитов, по-видимому, наблюдалось и в случаях стимуляции их миграции антигенами РЖ (см. табл. I).

Антигены аллогенной слизистой желудка, прилежащей к опухоли, подавляли миграцию лейкоцитов опухоленосителей в 21 из 95 случаев (22%) в среде с СКРС или доноров IV груп-

Таблица 1

Подавление миграции лейкоцитов больных раком желудка эстрантами аутологичных и аллогенных опухолей желудка

Исследуемые	Стадии опухоли	Среды спармала	Число больных	Наименование эстрантов на миграцию лейкоцитов		
				Позитивные	Стимуляторы	Без эффекта
Аллогенные	Рак желудка	I СКРО*	7	6	—	1
		СКБ РЖ*	7	4	—	2
		II СКРС	10	8	—	1
		СКБ РЖ	10	5	—	3
		III СКРС	43	24	5	14
		СКБ РЖ	39	12	8	19
		IV СКРС	35	10	6	19
		СКБ РЖ	31	9	7	15
	Слизистый желудка	I СКРС	7	1	—	6
		СКБ РЖ	7	—	—	6
		II СКРС	10	3	—	6
		СКБ РЖ	10	2	—	7
		III СКРС	43	11	11	21
		СКБ РЖ	39	4	10	25
		IV СКРС	35	6	8	21
		СКБ РЖ	31	3	7	21
Аутологичные	Рак желудка	I СКРС	2	1	—	1
		СКБ РЖ	2	1	—	1
		II СКРС	4	1	—	1
		СКБ РЖ	5	4	—	1
		III СКРС	26	17	5	4
		СКБ РЖ	25	10	9	6
	Слизистый	I СКРС	2	1	—	1
		СКБ РЖ	2	1	—	1
		II СКРС	4	1	2	1
		СКБ РЖ	5	1	—	3
		III СКРС	26	5	7	14
		СКБ РЖ	25	3	8	14

Примечание: * — СКРС — сыворотка крупного рогатого скота;
 * — СКБ РЖ — сыворотка крови больного раком желудка.

лы крови и в 9 случаях из 87 (10%) в среде с плазмой больных РЖ. При этом в половине всех случаев подавление миграции лейкоцитов опухоленосителей аллогенными антигенами слизистой желудка было слабее, чем антигенами соответствующих опухолей желудка.

Подавление миграции лейкоцитов больных РЖ I—IV ст. антигенами рака толстой кишки обнаружили в 6 случаях из 17 в среде с СКРС или сывороткой доноров IV группы крови и в 2 случаях из 6—в среде с плазмой опухоленосителя. Так как эти экстракты не подавляли миграцию лейкоцитов контрольных больных, то можно считать, что в опухолях желудка и толстой кишки встречаются общие антигены.

При испытании антигенов РЖ с лейкоцитами контрольных больных ПМЛ чаще наблюдали в среде с плазмой крови опухоленосителей—27 из 89 (30%) случаев. Это, по-видимому, объяснялось наличием в плазме больных раком антител, взаимодействие с которыми антигенов РЖ могло вызывать подавление миграции лейкоцитов контрольных больных. При культивировании лейкоцитов контрольных больных в среде с контрольной сывороткой ПМЛ отмечено в 13 случаях из 110 (11,8%). Причем у 9 из 36 больных язвенной болезнью желудка, двух—язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки (из 25), в одном случае—у больного острым панкреатитом и алкоголизмом и у одного—послеоперационной грыжей. Возможно, эта сенсibilизация наблюдается к общим антигенам, имеющимся в опухолях и патологически измененной ткани при язвенной болезни желудка и некоторых других заболеваниях. У 2 из 9 больных язвенной болезнью желудка, лейкоциты которых обладали реактивностью к антигенам РЖ, одновременно обнаружено более интенсивное подавление миграции экстрактами слизистой желудка. Так как в экстрактах РЖ, несомненно, содержатся некоторые антигены слизистой желудка, то ПМЛ больных контрольной группы антигенами РЖ может быть обусловлено наличием у них сенсibilизации к антигенам слизистой желудка, которая в большинстве случаев была воспалительно изменена.

Сенсibilизация лейкоцитов больных контрольной группы к антигенам слизистой оболочки желудка, прилежащей к опухоли, выявлена у 10 из 110 больных (9%).

Таким образом, сенсibilизация лейкоцитов больных РЖ к антигенам этих опухолей наиболее часто выявляется при локализованном опухолевом процессе. Лейкоциты больных РЖ в 22% случаев были сенсibilизированы к антигенам слизистой желудка, что превышает частоту ее (12%) в группе контроль-

Таблица 2

Подавление миграции лейкоцитов больных контрольной группы
и здоровых лиц антигенами рака желудка
и слизистой оболочки желудка

Диагноз обследуемого больного	Среда содержания	Число больных	Валентное антигенное на миграцию лейкоцитов		
			Подавление	Стимуляция	Без эффекта
Язвенная болезнь желудка	СКРС *	36/36	9/6	6/9	21/21
	СКБ РЖ *	30/30	12/5	1/1	17/21
	АПОБ *	18/18	8/5	3/2	7/11
Язвенная болезнь 12-перстной кишки	СКРС	25/25	2/3	4/4	19/18
	СКБ РЖ	16/16	4/5	2/2	10/9
	АПОБ	5/5	3/3	1—	1/2
Хронический гастрит	СКРС	7/7	—	1/2	6/5
	СКБ РЖ	1/4	2/1	1/1	1/2
	АПОБ	6/6	—/2	1/1	5/3
Доброкачественные опухоли желудка	СКБ РЖ	5/5	4/2	—	1/3
	АПОБ	5/5	2/1	1—	2/4
	СКРС	29/29	1/1	5/4	23/24
Грыжи, травма (легкая), здоровые	СКБ РЖ	29/29	3/4	6/6	20/19
	СКРС	7/7	1/1	4/3	2/3
Другие заболевания	СКБ РЖ	7/7	3/3	2/2	2/2

Примечание: * — СКРС — сыворотка крови крупного рогатого скота; * — СКБ РЖ — сыворотка крови больного раком желудка; * — АПОБ аутологичная плазма обследуемого больного. Числитель — результат испытания антигена РЖ. Знаменатель — результат испытания антигенов слизистой желудка, прилежащей к опухоли.

ных больных с неопухолевыми заболеваниями желудка ($P < 0.05$). По сравнению с данными, полученными при раке мочевого пузыря (18) и почки (17), при раке желудка наблюдается большее угнетение реактивности лейкоцитов в III и IV стадиях опухолевого процесса.

Выводы

1. Частота подавления миграции лейкоцитов больных раком желудка аллогенными антигенами рака желудка зависит от стадии опухолевого процесса: наибольшая она при РЖ I—II стадий (82,3%), наименьшая при РЖ IV стадии (28,5%). Стимуляцию миграции лейкоцитов больных РЖ антигенами РЖ наблюдали реже, но она была специфичной и указывала на иной тип их реактивности.

2. Выявление противоопухолевой сенсибилизации лейкоцитов к аллогенным антигенам рака желудка может иметь диагностическое значение у больных РЖ I—II ст.

3. Плазма крови больных РЖ угнетает реакцию их лейкоцитов на антигены опухоли, но индуцирует подавление миграции эритроцитами лейкоцитов контрольных больных.

DEPENDENCE OF LEUCOCYTE MIGRATION INHIBITION IN PATIENTS WITH CARCINOMA OF THE STOMACH BY TUMOUR EXTRACTS ON THE TUMOUR PROCESS STAGE

I. A. PETOUKHOV, D. K. NOVIKOV, A. P. SCHMAKOV

SUMMARY

95 patients with carcinoma of the stomach (CS) I—IV stages and 110 control patients and healthy donors were examined by the leucocyte migration inhibition reaction with the extracts of carcinoma of the stomach and the adjacent to the tumour the stomach mucosa.

Antigens of the allogenic tumours of the stomach inhibited the leucocyte migration in patients with CS I stage in 85%, with CS II stage in 80%, with CS III stage in 56%, with CS IV stage in 28. 5% in the medium with the control serum. Extracts of allogenic mucosa inhibited the leucocyte migration in 22% of patients with CS under the same conditions.

Plasma of patients tumour could abolish leucocyte migration inhibition by antigens in patients with CS of the stomach tumour and could induce it in leucocytes of the donors. Antigens of CS inhibited leucocyte migration in 13 out of 110 (11.8%) of the control patients. 9 of them possessed gastric ulcer.