

ИММУНОМОДУЛЯТОРЫ В КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ ИММУННОЙ И ЦИТОКИНОВОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ГЕПАТОКАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

Г.Г. КАСЫМОВА

Научно – исследовательский институт гематологии и переливания крови Министерства здравоохранения Республики Узбекистан

Резюме. Гепатоканцерогенез проявляется дисбалансом в иммунной системе и реципрокными изменениями уровня ФНО- α и ИЛ-1 β , выраженность которых усугубляется по мере прогрессирования опухолевого процесса. Комбинированная фармакотерапия гепатоканцерогенеза доксорубицином и ронколейкином или лактофлором способствует уменьшению токсического действия химиопрепарата на иммунную систему, активизирует противоопухолевую цитокиновую систему, что проявляется замедлением прогрессирования опухолевого процесса и снижением летальности экспериментальных животных.

Ключевые слова: гепатоканцерогенез, иммунная систем, комбинированная фармакотерапия.

IMMUNOMODULATORS IN THE CORRECTION OF THE IMMUNE AND CYTOKINE SYSTEM AT GEPATOKANCEROGENEZE

G.G. KASYMOVA

Scientific-Research Institute of Hematology and blood transfusion of Ministry of health of the Republic of Uzbekistan

Resume. Gepatokancerogenez in immune to system and reciprocted by change level HAIR DRYER- α and IL-1 β , it is expressed which is aggravated on measure progress onkogenesis process. Multifunction pharmththerapy hepatocancerogenesis docsorubicin and ronkoleikines or laktoflores promotes the reduction an tocsin actions chemicopreparation on immune system, actuates antitumor citokine system that reveals itself the deceleration progress onkogenesis process and reduction death-rate experimental animal.

Key words: gepatokancerogenez, immune systems, the combined drug therapy.

Гепатоцеллюлярный рак входит в десятку наиболее часто встречающихся злокачественных опухолей в мире и составляет 1,7-2,2% всех злокачественных новообразований [2, 8, 12]. Медиана выживаемости без лечения находится в пределах 2-6 мес., радикальное удаление опухоли возможно лишь у 5-15% больных, а остальные подлежат паллиативному лечению [8, 12]. Прогресс химиотерапии в онкологии позволил значительно повысить выживаемость больных и улучшить качество их жизни. Однако даже новейшие химиотерапевтические препараты оказывают токсическое воздействие на быстро пролиферирующие ткани организма, а также возможность развития резистентности опухолевых клеток к препаратам [7, 9]. Учитывая важную роль цитокинов в противоопухолевой защите, в настоящее время особое внимание исследователей привлечено к новым перспективным методам лечения, в основе которых лежит использование препаратов биологического происхождения, в частности рекомбинантным цитокинам [1, 6, 11].

Цель: оценить эффективность включения ронколейкина и лактофлора в коррекции нарушений иммунной и цитокиновой систем при гепатоканцерогенезе.

Материал и методы исследования. Работа проведена на 165 крысах-самцах массой тела 100-120 г. Животных содержали в условиях вивария на обычном рационе без дачи молока. В работе использована модель диэтилнитрозамин (ДЭНА)-индуцированного гепатоканцерогенеза. Синтез ДЭНА проводили в Институте химии АН РУз лабораторных условиях по методу В.Г. Евграфова и соавт. [4]. Синтезированный препарат содержит 98% ДЭНА, с удельным весом 0,943, температурой кипения 177°C, показателем преломления 1,438 и хорошо смешивается с водой. Использовалась широко распространенная схема введения канцерогена. Для индуцирования гепатоканцерогена у 170 крыс, канцероген вводили внутривентрикулярно зондом 5 раз в неделю в дозе 10 мг/кг массы тела в течение 2 месяцев. Летальность к концу введения канцерогена составила 22,9%. Через 5 месяцев от начала опыта оставшихся в живых

131 крыс разделили на 4 группы: 1-я - 35 крыс с гепатоканцерогенезом, получавших физиологический раствор по 0,5 мл/100 г; 2-я - 32 крыс, получавших доксорубин по 0,6 мг/кг в/б 3 дня (Doxorubicin, фирмы "Pharmitalia") [8]; 3-ю - 32 крыс, получавших комбинацию доксорубина в той же дозировке и ронколейкин по 0,006 мг/кг в/б (фирма «Биотех», Санкт-Петербург) 3 дня; 4-ю - 32 крыс получали доксорубин в той же дозе и лактофлор в дозе 0,3 мл/100г (РОНЦ Уз). Контрольную группу составили 10 интактных крыс, содержащихся в тех же условиях в течение всего эксперимента. Летальность к концу эксперимента составила 28,6; 25; 25 и 18,7%, соответственно группам. Животных забивали через 6, 7 и 8 месяцев от начала эксперимента.

В соответствующие сроки исследования животных забивали под легким эфирным наркозом декапитацией в холодной комнате при температуре воздуха $0^{\circ}+2^{\circ}\text{C}$ при соблюдении всех этических норм. Кровь собирали на гепаринизированные пробирки. Относительное содержание дифференцировочных маркеров лимфоцитов CD3+ (Т-лимфоцитов), CD4+ (Т-хелперы), CD8+ (Т-супрессоры/цитотоксические лимфоциты), CD16+ (натуральные киллеры), CD19+ (В-лимфоциты) в крови у экспериментальных животных определяли в Институте Иммунологии АН РУз с использованием моноклональных антител, производимых в Институте Иммунологии (Россия, Москва). Значения их выражали в относительных единицах (%). Уровень фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α) и интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β) определяли в Институте Иммунологии АН РУз на иммуноферментном анализаторе фирмы «Stat-Fax» (США) с использованием набора тест-систем, производимых фирмой ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург). Содержание их выражали в пг/мл. Статистическую обработку полученных результатов производили на компьютере Pentium-IV с помощью пакета прикладных программ.

Результаты и их обсуждение. У крыс с ДЭНА-индуцированным гепатоканцерогенезом на 6, 7 и 8 месяцы эксперимента наблюдалось значительное снижение числа общих лимфоцитов, нарушение показателей иммунной системы и иммунорегуляторного индекса (ИРИ)

(табл.1). Значительно угнеталась также неспецифическая иммунная защита. Этапная химиотерапия доксорубином на фоне снижения относительной массы опухоли приводила к еще большему дисбалансу в иммунной системе. Содержание общих лимфоцитов и Т-лимфоцитов на первом этапе лечения имело тенденцию к увеличению, а на последующих значительно снижалось. Уровень CD4+ от значений нелеченной группы животных существенно не отличался, а содержание CD8+ достоверно снижалось. Более выраженные изменения претерпевало содержание CD16+ и CD19+, которые было достоверно ниже, чем у нелеченных животных. Еще больше угнеталась фагоцитарная активность нейтрофилов. Доксорубин и ронколейкин при их совместном применении стимулировали специфическую и неспецифическую иммунную защиту, что проявлялось активизацией фагоцитарной активности нейтрофилов, увеличением общего содержания лимфоцитов, их субпопуляций и ИРИ. Это совпадало со снижением относительной массы опухоли. Приблизительно такое же действие оказывало совместное введение доксорубина и лактофлора.

Следовательно, доксорубин у животных с гепатоканцерогенезом вызывает иммунодепрессию, уменьшение активности естественных факторов защиты и относительной массы опухоли. При совместном введении доксорубина и ронколейкина или лактофлора наблюдается усиление противоопухолевого действия последнего, улучшение иммунологических показателей и активизация естественных факторов защиты.

У крыс с опухолью печени, индуцированной ДЭНА, во все сроки исследования в сыворотке крови отмечалось повышение содержания ФНО- α . Так, на 6-й месяц эксперимента отмечено резкое увеличение содержания ФНО- α в 3,33 раза относительно нормативных показателей. Однако в дальнейшем его содержание постепенно снижалось, но все еще достоверно превышало показатели интактных крыс в 2,67 и 2 раза. В то же время значения ИЛ-1 β прогрессивно снижались, составляя в конце эксперимента $4,08 \pm 0,027$ пг/мл ($P_1 < 0,001$), при значениях этих показателей у интактных крыс $22,5 \pm 1,17$ пг/мл (табл. №1).

Таблица №1.

Динамика изменения уровня цитокинов (пг/мл) у экспериментальных животных, (M±m)

Группы и сроки, мес.	ИЛ-1β	ФНО-α
Интактная	22,5±1,17	2,05±0,12
ДЭНА+физ.р-р:		
6	16,34±0,44*	6,83±0,33*
7	8,62±0,36*	5,47±0,28*
8	4,08±0,027*	5,01±0,32*
ДЭНА+доксорубин:		
6	14,23±0,61*	4,22±0,36*. ^б
7	6,74±0,32*	3,78±0,27*. ^б
8	3,05±0,13*. ^б	3,66±0,16*. ^б
ДЭНА+доксорубин+ ронколейкин:		
6	14,91±0,88*	8,22±0,29*. ^в
7	11,75±0,33*. ^в	9,57±0,61*. ^в
8	13,25±0,79*. ^в	7,29±0,43*. ^в
ДЭНА+доксорубин+ лактофлор:		
6	15,34±0,62*	6,69±0,42*. ^в
7	8,23±0,41*. ^в	8,12±0,53*. ^в
8	9,30±0,58*. ^в	6,45±0,41*. ^в

Примечание: * - различия между показателями интактной и опытной групп достоверны, б – различия между леченной и нелеченной группами достоверны; в – различия между показателями животных, получавших доксорубин и на его фоне иммуномодуляторы достоверны.

Этапная химиотерапия доксорубином способствовала снижению высокого уровня ФНО-α до 3,66±0,16 пг/мл ($P_1<0,001$ и $P_2<0,05$) и еще большему снижению низкого уровня ИЛ-1β до 3,05±0,13 пг/мл ($P_1<0,001$ и $P_2<0,05$). При совместном применении доксорубина и ронколейкина уровень ФНО-α и ИЛ-1β составил соответственно 7,29±0,43 ($P_1<0,001$ и $P_2<0,05$) и 13,25±0,79 пг/мл ($P_1<0,001$ и $P_2<0,001$), соответственно. Такая же направленность изменений, но в меньшей степени выраженности, наблюдалась и при совместном применении доксорубина и лактофлора. Уровень ФНО-α и ИЛ-1β в сыворотке крови крыс этой группы составил соответственно 6,45±0,41 ($P_1<0,001$ и $P_2<0,05$) и 9,30±0,58 пг/мл ($P_1<0,001$ и $P_2<0,001$).

Следовательно, у крыс с гепатоканцерогенезом химиотерапия доксорубином приводит к снижению содержания и ФНО-α и, особенно, ИЛ-1β. Включение в комплекс лечения лактофлора и, особенно, ронколейкина, способствует повышению изучаемых показателей по сравнению как с нелечеными животными, так и лечеными доксорубином.

Противоопухолевое действие ронколейкина связано со способностью его индуцировать цитокиновый каскад, стимулируя секрецию таких цитокинов, как ФНО-α и

интерферон-гамма, которые обуславливают антиангиогенный эффект препарата [3, 6]. ИЛ-2 способен регулировать механизмы апоптоза и системы L-аргинин-оксид азота [10]. В наших экспериментах препарат индуцировал противоопухолевое действие доксорубина, что проявлялось снижением летальности животных этой группы и замедлением прогрессирования гепатоканцерогенеза.

Особенностью действия лактофлора является его иммуномодулирующее и радиосенсибилизирующее действие. Препарат снижает токсичность химиотерапевтических средств, восстанавливает показатели системы L-аргинин-оксид азота [5].

Выводы:

1. Гепатоканцерогенез проявляется дисбалансом в иммунной системе и реципрокными изменениями уровня ФНО-α и ИЛ-1β, выраженность которых усугубляется по мере прогрессирования опухолевого процесса.
2. Комбинированная фармакотерапия гепатоканцерогенеза доксорубином и ронколейкином или лактофлором способствует уменьшению токсического действия химиопрепарата на иммунную систему.
3. Совместное введение доксорубина с рекомбинантным интерлейкином 2 или лактофлором активизирует противоопухолевую цитокиновую систему организма

экспериментальных животных, что проявляется замедлением прогрессирования опухолевого процесса и снижением летальности экспериментальных животных.

Литература:

1. Белокриницкая Т.Е., Витковский Ю.А., Пономарева Ю.Н. Роль цитокинов в патогенезе нарушений иммунитета и гемостаза у больных с тяжелыми дисплазиями и раком шейки матки. //Вопросы онкологии.- 2003.- №1.- С.51-54.
2. Гранов А.М., Таразов П.Г., Гранов Д.А. интервенционная радиология в комбинированном лечении рака печени. //Вопросы онкологии.- 2002.- №4-5.- С.480-488.
3. Джафарова И.У. Параллели морфологического и иммуногистохимического изучения интерлейкина-2 при злокачественной фиброзной гистиоцитоме мягких тканей //Вестник СПб. мед.академии им. М.М. Мечникова.- 2009.- Т.30, №1.- С.105-109.
4. Евграфов В. Г., Смирнов В. П. О применении нитрозаминов для индукции опухолей. //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.—1966.—Т.92.-№5.— С.100-102.
5. Каримов Х.Я., Касимова Г.Г., Исроилов Р.И. Влияние лактофлора на активность НАДФН-диафоразы печени при ДЭНА-индуцированном канцерогенезе. //Патология.- 2006.- №3.- С.11-13.
6. Моисеенко В.М., Новик А.В., Орлова Р.В. и др. 1 фаза клинических испытаний высоких доз рекомбинантного интерлейкина-2 (ронколейкина) у больных диссеминированной меланомой кожи. //Вопросы онкологии.- 2005.- №1.- С.546-549.
7. Павличенко О.В., Шатская В.А., Лузай Е.В. и др. Молекулярный механизм адаптации злокачественных опухолей к гормональным препаратам: роль фосфотидилинозит-3-киназы и фосфоинозитидзависимых белков. //Проблемы онкологии.- 2004.- №.- С.20-25.
8. Пулатов Д.А. Первичный рак печени: характеристика молекулярно-метаболических аспектов патогенеза и пути повышения эффективности лечения //Дисс....д.м.н.- Ташкент, 2005.- 240 с.
9. Филон В.А., Гершанович М.Л., Акимов М.А. и др. Проблемы онкологической фармакологии. //Вопросы онкологии.- 1998.- Т.44.- С.651-661. и соавт.,1998;
10. Чечина О.Е., Разанцева Н.В., Новицкий В.В. и др. Белки семейства Bcl-2 – молекулярные мишени проапоптотического действия ИЛ-2 и ИЛ-4 //Иммунология.- 2011.- Т.32, №3.- С.127-130.
11. Чмутин Е.Ф., Иванов П.К., Барышников А.Ю. Создание противоопухолевых препаратов на основе моноклональных антител: предпосылки и достижения. //Проблемы онкологии.- 2004.- №.- С.10-16.
12. Schoning-Hekele M., Muller C., Kutilek M. et al. Hepatocellular carcinoma in Central Europe: prognostic features and survival //Gut.- 2001.- Vol.48.- P.103-109.

ГЕПАТОКАНЦЕРОГЕНЕЗДА ИММУН ВА ЦИТОКИН ТИЗИМ БУЗИЛИШИ КОРРЕКЦИЯСИДА КУЛЛАНИЛАДИГАН ИММУНОМОДУЛЯТОРЛАР

Г.Г. КОСИМОВА

Узбекистон Республикаси ССВ гематология ва кон куйиш Илмий – текшириш институти

Гепатоканцерогенез иммун тизимда дисбаланс ҳамда ФНО-α ва ИЛ-1β даражасининг реципрок узгаришлари билан кечади. Усма жараёнининг кучайиши билан бу узгаришлар янада чуқурлашади. Гепатоканцерогенезда доксорубицин ва ронколейкин ёки лактофлор билан комбинацияланган фармакотерапияда химия воситасининг иммун тизимига токсик таъсирини камайтиради, усмага қарши цитокин тизимини активлаштиради. Бу усма жараёни ривожланишини секинлаштиради, тажриба хайвонларининг улим курсаткичини камайтиради.

Калит сузлар: гепатоканцерогенез, иммун тизим, комбинациялашган фармакотерапия.