

УДК 618.19-006.6-037

ЦИТОКИНЫ СЫВОРОТКИ КРОВИ КАК МАРКЕРЫ ОНКОГЕНЕЗА И ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС WISTAR

¹Повещенко А.Ф., ¹Казаков О.В., ¹Орлов Н.Б., ¹Повещенко О.В., ¹Ким И.И.,
¹Бондаренко Н.А., ¹Миллер Т.В., ²Соловьева И.Г., ³Стрункин Д.Н., ¹Кабаков А.В.,
¹Райтер Т.В., ¹Лыков А.П., ⁴Рогачев В.А., ⁴Богачев С.С., ¹Коненков В.И.

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии», Новосибирск;

²ГБОУ ВПО НГМУ Минздрава России, Новосибирск;

³ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск;

⁴ФГБУН «Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, e-mail: poveshchenkoa200@mail.ru

В патогенезе рака молочной железы существенную роль играют цитокины. Цель работы – изучение уровней цитокинов, вовлеченных в патогенез рака молочной железы. Рак молочной железы индуцировали введением п-метил-N-нитрозомочевины крысам породы Wistar. Часть животных подвергалась только оперативному вмешательству или же только полихимиотерапии (циклофосфан, метотрексат, 5-фторурацил). У части животных сочетали оба вида терапии, а также в отдельной группе к полихимиотерапии добавляли введение препарата панаген, представляющего собой фрагментированные молекулы ДНК. Для исследования концентрации цитокинов в сыворотке крови использовали тест-систему Bio-Plex Pro Rat Cytokines 24-Plex Assay (Bio-Rad, США). При проведении сравнительного исследования цитокинового профиля сыворотки крови крыс Wistar установлено, что содержание цитокинов зависело от проводимой терапии у животных с индуцированным раком молочной железы.

Ключевые слова: рак молочной железы, цитокины сыворотки крови, полихимиотерапия, панаген, крысы Wistar

SERUM CYTOKINES OF WISTAR RATS – MARKERS OF CARCINOGENESIS AND EFFECTIVENESS OF CANCER THERAPY

¹Poveschenko A.F., ¹Kazakov O.V., ¹Orlov N.B., ¹Poveschenko O.V., ¹Kim I.I.,
¹Bondarenko N.A., ¹Miller T.V., ²Soloveva I.G., ³Strunkin D.N., ¹Kabakov A.V.,
¹Rayter T.V., ¹Lykov A.P., ⁴Rogachev V.A., ⁴Bogachev S.S., ¹Konenkov V.I.

¹FGBNU «Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology», Novosibirsk;

²Medical University NSMU Russian Ministry of Health, Novosibirsk;

³FGBNU «Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology», Novosibirsk;

⁴Federalnoe State Institution of Science Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, e-mail: poveshchenkoa200@mail.ru

Cytokines play an important role in the pathogenesis of breast cancer. Purpose – to study the levels of cytokines involved in the pathogenesis of breast cancer. Breast cancer is induced by introducing n-methyl-N-nitrosourea breed rats Wistar. Some of the animals subjected to only surgery or only chemotherapy (cyclophosphamide, methotrexate, 5-fluorouracil). Some animals combine both types of therapy, as well as a separate group to the administration of the drug was added PCTs Panagene – a fragmented DNA molecule. To investigate cytokine concentrations in serum test system using Bio-Plex Pro Rat Cytokines 24-Plex Assay (Bio-Rad, USA). In a comparative study of serum cytokine profile of Wistar rats that concentrations depended on cytokine therapy in animals with breast cancer.

Keywords: breast cancer, cytokines of serum, chemotherapy, Panagene, Wistar rats

Рак молочной железы (РМЖ) сохраняет лидирующую позицию среди онкологической патологии у женщин во всем мире [4]. Одним из патогенетических механизмов возникновения и прогрессии опухолевого роста являются белковые медиаторы – цитокины, хемокины и ростовые факторы. Цитокины секретируются как лимфоидными, так и опухолевыми клетками [1, 2, 3, 9],

оказывают влияние на множество различных клеток-мишеней, а цитокиновая сеть является важнейшим регуляторным механизмом межклеточных взаимодействий. С одной стороны, цитокины проявляют себя как факторы опухолевой прогрессии, активируя ангиогенез и миграцию опухолевых клеток, изменяют функцию клеток-мишеней, вовлечены в механизм уклонения

опухолевых клеток от системы иммунного надзора [11]. С другой стороны, цитокины могут являться основными медиаторами противоопухолевого иммунитета. Концентрация и баланс уровней цитокинов и их антагонистов способствуют усилению или ингибированию роста рака молочной железы [10]. Изменения относительной концентрации некоторых цитокинов, таких как IL-1, IL-6, IL-11, IL-19, TGF- β , могут прямо и опосредованно стимулировать рак молочной железы [10]. Цитокины также могут влиять на эффективность лечения рака, усугублять токсическое воздействие химиотерапии и оказывать действие на метаболизм лекарственных препаратов. В настоящее время важная роль системы цитокинов как факторов внутренней среды организма в нормальных условиях и на разных этапах онкогенеза, как прогностических факторов при развитии социально значимых болезней не вызывает сомнений. Изучение уровня продукции цитокинов в сыворотке крови при опухолях имеет большое значение для прогнозирования выживаемости, оценки риска развития рецидивов и смертности онкологических больных. Однако данные литературы по этому вопросу часто являются противоречивыми. Проблема участия цитокинов в опухолевом росте и при применении различных способов лечения требует дальнейшего изучения.

Цель работы – определить количественные характеристики и качественные особенности цитокинового профиля крови на различных этапах онкогенеза РМЖ, провести сравнительное исследование цитокинов сыворотки крови крыс Wistar после проведения операции, полихимиотерапии, полихимиотерапии в сочетании с курсом терапии препаратом панаген.

Материалы и методы исследования

Эксперименты на лабораторных животных проведены в соответствии с «Правилами работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. № 755) и с соблюдением принципов Хельсинкской декларации ВМА (2000). Животных содержали в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище. Забой выполняли одновременно в утренние часы.

Исследования проводили на половозрелых (возраст 3 мес.) крысах-самках породы Wistar массой 250–300 г в количестве 9–10 животных в каждой группе: 1-я группа – интактные крысы; 2-я группа – крысы с РМЖ (опухоленосители); 3-я группа – крысы с РМЖ после проведения полихимиотерапии (ПХТ); 4-я группа – крысы после удаления РМЖ (оперированные животные), 5-я группа – крысы после удаления РМЖ и ПХТ, 6-я группа – крысы после удаления ОМЖ в сочетании с ПХТ и введением препарата панаген. Опухоль индуцировали инъекцией экотокси-

кант N-метил-N-нитрозомочевины (МНМ) в область молочной железы крысам-самкам пятикратно (1 инъекция в неделю) (Sigma-Aldrich, США) [5]. Оперативное лечение проводили через 6 месяцев от момента индукции РМЖ. Для ПХТ использовали схему ЦМФ (циклофосфан – в дозе 100 мг/м² с 1 по 14 день; метотрексат – в дозе 40 мг/м² в 1 и 8 дни; 5-фторурацил – в дозе 600 мг/м² в 1 и 8) (Sigma-Aldrich, США). Курс терапии панагеном (5мг/кг) проводили внутривентральным введением однократно в течение 14 дней через 3 часа после введения циклофосфана. В экспериментах использовали субстанцию препарата панаген с содержанием фрагментированной ДНК 1,7 мг/мл (ЛСР № 004429/08 от 09.06.08), выделенный из плаценты человека. Животных из эксперимента выводили через 6 месяцев под наркозом (40 мг/кг нембутана внутривентрально; Sigma-Aldrich, США).

Аликвоты собранных сывороток крови замораживали и хранили при минус 20°С до тестирования. Для исследования концентрации цитокинов использовали тест-систему Bio-Plex Pro Rat Cytokonep 24-Plex Assay (Bio-Rad, США). Содержание цитокинов в сыворотке крови выражали в пикограммах в миллилитре (пг/мл).

Результаты представлены средним значением и среднеквадратическим отклонением ($M \pm \sigma$); медианой (Me), нижним и верхним квартилями (Q1; Q3). Достоверность различия рассчитывалась по U-критерию Манна – Уитни. Различия между группами считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты исследования содержания цитокинов в сыворотке крови животных представлены в таблице. У крыс с РМЖ содержание большинства исследованных цитокинов, таких как, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-12, IL-13, IL-17A, IFN- γ , MIP-1 α , MIP-3 α , RANTES, TNF- α , MCP-1, было статистически значимо выше, чем у интактных животных. Причем уровень провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6 и TNF- α увеличился при РМЖ в 1,8 раз ($p = 0,002$); в 2,5 раз ($p = 0,0007$); в 2,6 раз ($p = 0,001$) соответственно. Индуцирование РМЖ приводило к повышению уровня ряда хемокинов, таких как MIP-1 α , MIP-3 α , RANTES, MCP-1, в 2,1 раза ($p = 0,04$); в 1,5 раз ($p = 0,002$); в 1,7 раз ($p = 0,003$); в 1,2 раз ($p = 0,01$); соответственно, и снижению продукции GRO/KC в 1,4 раз ($p = 0,02$). Провоспалительные цитокины и хемокины могут способствовать метастазированию опухоли и стимулировать ангиогенез как прямо, так и опосредованно через другие биологически активные вещества. Индуцирование РМЖ приводило к снижению продукции противовоспалительного цитокина IL-10 в 1,5 раз ($p = 0,02$), что может способствовать иммуносупрессии и ослаблению противоопухолевой защиты. Можно предположить, что указанные цитокины, в том числе провоспалительные и хемокины,

продуцируются прежде всего опухолевыми клетками, а также инфильтрирующими опухоль лимфоидными клетками. Некоторые из этих цитокинов действуют как аутокринные или паракринные факторы роста для опухолевой ткани. По мнению многих исследователей, провоспалительные цитокины внутри опухоли и ее микроокружения связаны с прогрессированием РМЖ [4, 5, 6]. Высокое содержание этих биологически активных факторов у животных с РМЖ позволяет отнести их к маркерам опухолевого роста. Полученные данные согласуются с результатами других исследователей [2, 3, 4].

Оперативное удаление опухоли привело к достоверному снижению содержания в сыворотке крови как провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-2, IL-12, IL-18, TNF- α), хемокинов (MIP-1 α , MIP-3 α , RANTES, GRO/KC), так и противовоспалительных цитокинов IL-4, IL-13, и ростовых факторов IL-7 и EPO, по сравнению с РМЖ. Количество IL-10 после операции осталось на уровне РМЖ.

Сравнительное исследование показателей содержания цитокинов после удаления опухоли с интактными животными показало, что содержание IL-10, IL-18, EPO, GRO/KC, RANTES было достоверно выше в группе контрольных животных. Причем уровень продукции IL-10 и EPO после операции был сопоставим с уровнем при РМЖ. Основным источником IL-10 в опухолевом микроокружении являются макрофаги, которые увеличивают экспрессию IL-10 в ответ на сигналы от гибнущих раковых клеток. Удаление первичного опухолевого очага, очевидно, ослабило сигнальные пути, и продукция IL-10 была невысокой [4]. Содержание IL-6, TNF- α и хемокина MCP-1 в группе прооперированных животных было достоверно выше по сравнению с контролем, что позволяет считать их не только провоспалительными маркерами, но и маркерами метастазирования. Доказано, что удаление первичных опухолей (без удаления региональных лимфоузлов и последующей химиотерапии) может приводить к ускорению метастазирования, что связано со многими факторами, в том числе со стимулированием ангиогенеза и лимфангиогенеза [4].

Проведение ПХТ привело к достоверному снижению содержания IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-7, IL-12, IL-18, MIP-1 α , MIP-3 α , RANTES в сыворотке крови крыс с РМЖ. При ПХТ в отличие от оперативного лечения не снижался уровень продукции TNF- α . Уровень IL-10 как при ПХТ, так и после операции оставался на уровне РМЖ. Вероятно, результаты отражают ингибирующий эффект цитостатиков прежде всего на опухолевые

клетки, а также на функциональную активность лимфоидных клеток. Ингибирующий эффект на исследуемые ростовые факторы и хемокины такие как EPO, G-CSF GM-CSF, M-CSF, VEGF, GRO/KC, не был достоверным.

При исследовании концентрации цитокинов в сыворотке крови крыс после удаления опухоли по сравнению с животными после удаления РМЖ и ПХТ не было обнаружено достоверных различий. Тем не менее, содержание IL-2, IL-5, IL-7, IL-13, IL-17A, G-CSF, MCP-1 в сыворотке крови было достоверно выше в группе оперированных животных по сравнению с сочетанной терапией. В данном случае отсутствуют изменения продукции маркеров метастазирования таких как IL-1 β , IL-6, MIP-1 α , MIP-3 α , VEGF, MCP-1. Но в то же время уровень продукции хемокинов GRO/KC и RANTES выше при сочетании ПХТ и оперативного лечения. Очевидно, что GRO/KC и RANTES определяют не только метастазирование, но и хемотаксис иммунокомпетентных клеток.

Сравнительное исследование содержания цитокинов в сыворотке крови прооперированных животных после проведения полихимиотерапии и введения препарата панаген показало, что большинство показателей содержания цитокинов (IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-10, IL-12, IL-17A, IL-18, G-CSF GM-CSF, GRO/KC, IFN γ , MIP-1 α , MIP-3 α) сыворотки крови было выше после введения препарата панаген. Стимулирующее влияние препарата панаген на лимфоидные клетки выражается в увеличении продукции целого ряда цитокинов. Концентрация IL-2, IL-4, IL-6, IL-17A, GM-CSF при введении панагена была выше по сравнению с интактными животными. Это совпадает с представлениями о том, что цитостатики в сочетании с препаратом ДНК, возможно, обеспечивают противоопухолевый эффект и стимулируют лимфоидные клетки иммунной системы [8]. Установлено, что двуцепочечная ДНК (дцДНК) приводит к созреванию дендритных клеток и индуцирует гуморальный и клеточный иммунитет. Добавление фрагментов дцДНК человека в культуру дендритных клеток приводит к продукции ими Th1- цитокинов, увеличивается аллостимуляторная активность дендритных клеток, приводящая к пролиферации Т-лимфоцитов [8].

Цитостатическая терапия остается одним из основных методов лечения злокачественных новообразований в настоящее время. Однако возможности химиотерапии лимитируются выраженными побочными эффектами цитостатических препаратов, связанных в первую очередь с низкой селективностью противоопухолевого эффекта

большинства известных в настоящее время цитостатиков и их токсическим влиянием на нормальные активно пролиферирующие клеточные системы организма. В связи с этим при проведении химиотерапии для повышения эффективности лечения применяют модификаторы биологических реакций – агенты различной природы, воздействующие как на опухолевые клетки, так и различные регуляторные системы организма, к которым относят и препараты ДНК

(панаксен). Данные литературы указывают на возможность не только усиления с помощью препаратов ДНК противоопухолевой активности цитостатических препаратов, но и стимулирующего влияния на лимфоидные клетки иммунной системы, что согласуется с полученными нами результатами [8]. Полученные результаты не противоречат представлениям других авторов о роли цитокинов в регуляции клеточного роста, ангиогенеза, метастазирования [4, 5].

Содержание цитокинов в сыворотке крови крыс опухоленосителей РМЖ по сравнению с контролем и после проведения различных видов лечения (пг/мл)

Содержание цитокина, (пг/мл)	Группа животных					
	Контрольная группа (интактные животные) М ± σ Me; (LQ-HQ)	РМЖ М ± σ Me; (LQ-HQ)	Животные после операции удаления РМЖ М ± σ Me; (LQ-HQ)	Животные с РМЖ после ПХТ М ± σ Me; (LQ-HQ)	Животные после операции удаления РМЖ и ПХТ М ± σ Me; (LQ-HQ)	Животные после операции удаления РМЖ и полихимиотерапии и введения панаксена М ± σ Me; (LQ-HQ)
1	2	3	4	5	6	7
IL-1α	596,4 ± 92,9 610,6; (541,8–621,1)	600,4 ± 119,7 643,0; (563,3–670,5)	518,0 ± 142,6 466,7; (430,0–573,6)	400,3 ± 126,6 359,1; (276,6–486,8)•	550,6 ± 102,9 579,5; (488,7–645,0)	545,9 ± 125,6 611,7; (518,5645,6)
IL-1β	455,5 ± 130,8 446,0; (354,5–585,3)	837,3 ± 169,8 726,5; (696,0–976,3)**	419,9 ± 135,3 394,3; (270,8–419,8)#	585,3 ± 168,9 477,6; (435,2–680,3)•	479,9 ± 109,6 482,0; (395,1–551,7)	502,5 ± 171,3 559,8; (397,0–661,2)
IL-2	1275,4 ± 173,7 1339,0; (1245,9–1443,4)	2250,6 ± 562,5 2053,9; (1850,2–2433,8)**	1247,7 ± 309,0 1086,5; (1051,5–1512,2)#	1607,4 ± 193,6 1549,7; (1483,7–1749,6)•	862,3 ± 142,2 855,5; (732,1–962,5)•♦	2209,3 ± 698,3 2490,3; (1780,8–2630,9)&†
IL-4	94,3 ± 21,6 83,8; (79,7–101,0)	145,2 ± 26,2 125,1; (123,8–166,7)**	89,2 ± 28,8 98,1; (54,9–113,6)#	110,9 ± 31,4 97,0; (85,7–115,0)•	98,2 ± 13,3 103,2; (90,0–109,3)	140,3 ± 28,1 144,8; (121,2–159,2)&†
IL-5	679,3 ± 31,3 673,1; (655,5–686,7)	675,1 ± 63,5 645,2; (608,3–731,2)	687,5 ± 38,1 690,1; (664,0–722,7)	682,2 ± 37,6 680,5; (640,8–728,5)	536,0 ± 71,7 544,1; (476,6–592,7)•♦	659,1 ± 39,7 668,7; (614,8–691,6)†
IL-6	482,8 ± 124,4 532,8; (431,3–567,2)	1190,1 ± 166,5 1190,1; (1139,5–1337,7)**	841,4 ± 286,0 813,1; (645,0–1072,6)*	745,4 ± 441,7 482,6; (432,0–713,0)•	547,5 ± 146,2 484,9; (451,2–559,1)	1048,3 ± 91,0 1033,5; (970,5–1131,8)&†
IL-7	493,0 ± 136,1 443,1; (386,2–617,7)	908,6 ± 317,0 744,7; (734,3–825,5)**	502,7 ± 154,3 453,5; (394,0–658,3)#	549,6 ± 58,3 567,9; (504,5–586,6)•	331,0 ± 78,9 329,5; (260,4–388,5)•♦	489,9 ± 138,2 449,5; (353,7–609,9)†
IL-10	3620,2 ± 771,3 3639,6; (3223,4–4476,6)	2434,9 ± 652,2 2292,2; (1937,3–3084,9)**	2375,8 ± 711,4 2291,2; (1772,6–2757,5)*	2246,0 ± 943,5 1809,7; (1429,8–2541,4)	2222,9 ± 278,9 2174,3; (2035,7–2368,0)♦	3113,0 ± 559,4 3136,4; (2807,9–3679,1)†
IL-12	101,0 ± 23,9 98,2; (87,6–115,0)	171,7 ± 35,1 163,0; (142,9–191,3)**	86,7 ± 25,9 83,4; (73,4–113,3)#	116,4 ± 42,7 106,5; (83,3–138,8)•	83,7 ± 22,6 78,2; (70,3–83,7)	121,2 ± 32,5 118,3; (100,0–151,1)†
IL-13	298,5 ± 66,0 268,2; (236,8–309,1)	473,4 ± 40,9 454,4; (447,8–524,4)**	316,6 ± 97,7 302,2; (234,7–411,3)#	416,7 ± 150,6 378,4; (288,0–502,2)	173,1 ± 32,5 184,0; (133,4–220,4)•♦	344,9 ± 144,5 327,7; (185,0–417,7)
IL-17 A	179,7 ± 28,2 173,8; (156,5–197,8)	253,1 ± 67,9 238,2; (186,4–317,2)**	190,5 ± 41,6 188,1; (159,0–232,7)	176,0 ± 42,4 164,5; (145,3–221,4)•	137,5 ± 17,2 136,7; (126,6–148,7)•♦	303,0 ± 142,7 235,7; (200,7–272,1)&†
IL-18	8192,1 ± 3348,7 10449,8; (4657,2–10990,0)	9199,0 ± 1057,8 9726,5; (8806,5–9988,8)	2242,9 ± 818,2 1870,3; (1658,4–2409,6)**	3569,7 ± 938,1 3169,1; (2827,3–3657,3)•	2466,2 ± 749,2 2103,7; (1812,0–2646,4)♦	7424,4 ± 2447,4 7985,6; (6048,1–9673,5)†
EPO	2317,9 ± 1040,5 2306,0; (1319,5–3240,1)	2072,1 ± 1065,7 1494,4; (1295,9–2191,3)	1956,6 ± 1911,9 860,2; (840,1–1041,9)**	1535,8 ± 463,2 1554,1; (1123,1–1888,2)	1268,3 ± 435,0 1145,7; (883,4–1561,6)♦	1992,7 ± 1086,4 2165,0; (670,5–2834,7)

Окончание таблицы

1	2	3	4	5	6	7
G-CSF	15,6±4,2 17,3; (10,1–19,9)	24,7±6,4 29,5; (19,6–29,8)**	16,9±5,2 19,9;(10,1–20,4)	18,0±8,0 15,0; (10,0–26,0)	8,7±2,0 9,9; (9,6–10,1)♦	34,9±28,8 19,9; (17,3–22,6)†
GM-CSF	361,4±84,6 336,7; (294,3–366,0)	428,5±152,0 427,6; (324,3–546,9)	381,0±148,9 423,4; (224,1–530,1)	399,6±83,3 361,3; (330,4–444,6)	315,5±91,5 314,1; (232,1–390,3)	433,5±139,2 485,4; (364,2–573,2)&†
GRO/ KC	4115,0±1073,5 3915,4; (3510,9–5457,8)	2971,9±416,2 2917,4; (2535,1–3489,3)**	1182,8±239,8 1175,4; (1108,0–1467,9)*#	4224,3±2187,2 3487,5; (2787,9–5026,8)	2097,1±242,4 2108,2; (2023,4–2246,1)♦	3744,4±549,1 3649,6; (3621,3–4037,2)†
IFN γ	112,6±40,6 87,5; (80,6–151,2)	165,3±59,7 201,7; (113,9–209,4)**	123,4±49,0 125,3; (88,4–173,0)	120,9±88,0 74,4; (52,9–125,3)	75,3±17,9 83,2; (75,7–88,0)♦	158,6±52,9 170,6; (129,1–213,1)†
M-CSF	489,6±88,0 455,4; (441,8–543,1)	459,5±136,5 351,6; (344,3–523,4)	433,3±30,8 426,4; (413,3–438,5)	372,4±92,8 332,8; (290,5–469,5)	408,3±123,1 401,7; (316,5–532,1)	466,5±50,2 486,2; (420,4–498,2)
MIP-1 α	1519,7±680,0 1147,3; (973,6–1515,8)	3340,4±2119,6 2178,6; (1539,1–5606,7)	1283,7±363,9 1148,3; (1005,2–1448,0)#	1211,3±403,6 1195,1; (859,9–1413,2)•	955,5±177,1 952,2; 861,8–1017,6)	2648,0±1881,9 1427,5; (1068,8–3232,4)†
MIP-3 α	229,9±32,6 205,9; (203,0–250,4)	333,8±32,6 349,6; (314,9–361,3)**	214,3±32,5 216,4; (183,4–246,9)#	271,3±41,1 276,8; (239,4–302,4)•	207,8±31,2 203,3; (182,0–233,8)	266,6±59,5 294,0; (215,3–322,6)†
RAN- TES	3050,3±1039,0 3204,8; (1819,9–3650,7)	5240,0± 751,9 4942,2; (4645,9–5769,4)**	2975,6±892,3 2689,1; (2154,8–3186,9)*#	3903,5±577,0 3942,6; (3492,3–4259,1)•	3782,5±377,0 3717,9; (3486,3–4012,2)♦	4080,5±567,3 4261,8; (3895,5–4683,3)
TNF α	26,6±10,1 25,0; (19,7–37,5)	67,7±5,8 69,9; (60,2–70,5)**	38,7±8,7 35,3; (30,1–49,9)*#	50,0±22,9 39,9; (30,1–65,0)	44,0±11,4 39,9; (38,1–44,5)♦	45,8±10,8 43,1; (37,5–49,9)&
VEGF	63,6±8,0 63,7; (57,8–70,3)	66,4±12,6 64,4; (53,4–81,3)	62,0±26,3 49,1; (37,0–96,5)	63,5±14,2 58,0; (52,2–70,3)	44,3±5,8 40,9; (40,3–42,5)♦	46,4±9,4 43,4; (39,9–51,3)&
MCP-1	3325,8±257,5 3307,3; (3055,5–3436,7)	3916,5±134,1 3920,6 (3900,7–4013,6)**	4528,4±1276,4 3931,5; (3594,9–4116,3)*	3604,7±463,9 (3174,3–3827,9)	2916,0±431,7 3169,9; (2490,9–3316,1)♦	3284,9±642,7 3316,1; (2621,5–3977,3)

Примечание. Обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей сыворотки крови: интактных (** при $p < 0,05$), от сыворотки крови крыс с РМЖ интактных (* – при $p < 0,05$), от сыворотки крови крыс после операции удаления РМЖ, интактных (♦ – при $p < 0,05$), от сыворотки крови крыс после операции удаления РМЖ и ПХТ. (интактных (& при $p < 0,05$), от сыворотки крови крыс после операции удаления РМЖ и ПХТ и введения панагена. РМЖ (# – при $p < 0,05$), сыворотки крови оперированных животных. РМЖ (• – при $p < 0,05$), сыворотки крови РМЖ после ПХТ. Животных после операции удаления РМЖ(♦ – при $p < 0,05$), сыворотки крови животных после операции удаления РМЖ и ПХТ. Животных после операции удаления РМЖ в сочетании с ПХТ († – при $p < 0,05$), по сравнению с животными после операции удаления РМЖ и проведения ПХТ и введения панагена.

Опухолевые клетки способны продуцировать различные цитокиновые молекулы и имеют к ним рецепторы, что позволяет осуществлять аутокринную регуляцию собственной жизнедеятельности. В процессе опухолевой прогрессии появляются новые свойства опухолевых клеток и локального микроокружения (включающего фибробласты, эндотелиоциты, иммунные клетки, компоненты экстрацеллюлярного матрикса), которые способствуют диссеминации путем регуляции воспаления, клеточной миграции, пролиферации и инвазии опухолевых клеток, стимуляции ро-

ста лимфатических сосудов [13, 14]. Показано, что один и тот же цитокин может проявлять различные эффекты на разных стадиях опухолевого процесса [4]. Результаты некоторых исследователей показали, что содержание всех изученных цитокинов в опухолевой ткани было существенно выше, чем в неизмененной ткани. Так, IL-6, IL-8, IL-10 могут продуцироваться опухолевыми клетками и служить факторами роста и прогрессии опухоли, что совпадает с полученными нами результатами [4, 6]. Характер течения, эффективность лечения и исход РМЖ, с одной

стороны, определяются биологическими свойствами опухолевых клеток, с другой – могут модулироваться различными факторами организма. В процесс взаимодействия «опухоль – организм» вовлекается множество цитокинов.

Согласно современным исследованиям, наиболее перспективными в качестве маркеров опухолевого роста и прогностических факторов при злокачественных новообразованиях являются цитокины IL-1 β , TNF α , IL-6 и IL-4. Известно, что провоспалительные цитокины IL-6, TNF- α и IL-1 β , которые вырабатываются как лимфоцитами, так и опухолевыми клетками, проявляют себя как факторы усиления опухолевой прогрессии, активирующие ангиогенез и миграцию опухолевых клеток, а TNF- α , являясь индуктором апоптоза, может вызывать усиление гибели лимфоцитов, и миграции в этот орган опухолевых клеток [5, 6]. Для ряда солидных опухолей человека показана корреляция уровня данных цитокинов с агрессивностью течения онкологических заболеваний, метастатическим потенциалом, риском развития рецидивов и продолжительностью жизни больных [12]. С увеличением тяжести опухолевой прогрессии повышается способность клеток крови к продукции цитокинов, обладающих мощным проопухолевым влиянием, то есть активируются механизмы положительной обратной связи.

Заключение

При проведении сравнительного исследования цитокинового профиля сыворотки крови крыс Wistar установлено, что количественное содержание цитокинов при РМЖ зависит от типа проводимой терапии по поводу заболевания. РМЖ стимулирует продукцию как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов, основными продуцентами которых являются иммунокомпетентные клетки, клетки опухолевого микроокружения и самой опухоли. Продукция цитокинов может изменяться в процессе прогрессирования, подавления развития опухоли или метастазирования. Уровни цитокинов сыворотки крови могут служить прогностическим критерием эффективности проводимой терапии и риска метастазирования РМЖ.

Список литературы

1. Повещенко А.Ф., Абрамов В.В., Козлов В.А. Цитокины – факторы нейроэндокринной регуляции // Успехи физиол. наук. – 2007. – № 3. – С.40–46.

2. Повещенко А.Ф., И Коненков В. Механизмы и факторы ангиогенеза // Успехи физиологических наук. – 2010. – Т. 41. – № 2. – С. 68–89.

3. Повещенко О.В., Повещенко А.Ф., Коненков В.И. Физиологические и цитологические основы клеточной регуляции ангиогенеза // Успехи физиологических наук. – 2012. – Т. 43. – № 3. – С. 48–61.

4. Соснина А.В., Великая Н.В., Аутеншлюс А.И. Роль цитокинов в патогенезе злокачественных новообразований. – Новосибирск: Вектор-Бест, 2013. – С.80.

5. Стахеева М.Н., Слонимская Е.М., Кухарев Я.В., Гарбуков Е.Ю., Горева Е.П., Сенников С.В., Козлов В.А., Чердынцева Н.В. Взаимосвязь уровня продукции IL-1 β клетками крови у больных раком молочной железы с различным исходом // Цитокины и воспаление. – 2010. – Т. 9, – № 3. – С. 72–73.

6. Чердынцева Н.В., Стахеева М.Н., Литвяков Н.В., Бабышкина Н.Н., Малиновская Е.А., Слонимская Е.М. Цитокины в патогенезе злокачественных новообразований // Цитокины и воспаление. – 2005. – № 2. – С. 103.

7. Чочиева А.Р. Химиопрофилактика рака молочной железы в эксперименте: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Старая Купавна, 2010. – С.47.

8. Alyamkina E.A., Leplina O.Y., Sakhno L.V., Chernykh E.R., Ostanin A.A., Efremov Y.R., Shilov A.G., Proskurina A.S., Orishchenko K.E., Dolgova E.V., Rogachev V.A., Nikolin V.P., Popova N.A., Zagrebelniy S.N., Bogachev S.S., Shurdov M.A. Effect of double-stranded DNA on maturation of dendritic cells in vitro. // Cellular Immunology. – 2010. – Vol. 266. – P. 46–51.

9. Boon T. and van den Eynde B. Tumour immunology // Current Opinion in Immunology. – 2003. – Vol.15, № 2. – P. 129–130.

10. Nicolini A., Carpi A., and Rossi G. Cytokines in breast cancer // Cytokine & Growth Factor Reviews. м 2006. – Vol. 17, № 5. – P. 325–337.

11. Purohit A., Newman S. P., and Reed M. J. The role of cytokines in regulating estrogen synthesis: implications for the etiology of breast cancer. // Breast Cancer Research. – 2002. – Vol. 4, № 2. – P. 65–69.

12. Sivaparvathi M., R. Sawaya R., Wang S.W. Overexpression cytokines during the progression of human gliomas // Clin. Exp. Metastasis. – 1995. – V. 13, № 1. – P. 49–56.

13. Waugh D.J., Wilson C. The interleukin-8 pathway in cancer. // Clin. Cancer Res. – 2008. – Vol. 14. – P. 6735–6741.

14. Wang T.B., Deng M.H., Qiu W.S., Dong W.G. Association of serum vascular endothelial growth factor-C and lymphatic vessel density with lymph node metastasis and prognosis of patients with gastric cancer // World J Gastroenterol. – 2007. – Vol. 13. – P. 1794–1797.

15. Wilson J. and Balkwill F. The role of cytokines in the epithelial cancer microenvironment // Seminars in Cancer Biology. – 2002. – Vol. 12, № 2. – P. 113–120.

References

1. Poveshchenko A.F., Abramov V.V., Kozlov V.A. Citokiny faktory nejroendokrinnnoj reguljacji // Uspehi fiziol. nauk. 2007. no. 3. pp. 40–46.

2. Poveshchenko A.F., I Konenkov V. Mehanizmy i faktory angiogeneza. Uspehi fiziologicheskikh nauk. 2010. T. 41. no. 2. pp. 68–89.

3. Poveshchenko O.V., Poveshchenko A.F., Konenkov V.I. Fiziologicheskie i citologicheskie osnovy kletочноj reguljacji angiogeneza. Uspehi fiziologicheskikh nauk. 2012. T. 43. no. 3. pp. 48–61.2. Sosnina A.V., Velikaja N.V., Autenshljus A.I. Rol citokinov v patogeneze zlokachestvennyhnovo- obrazovaniy. Novosibirsk : Vektor-Best, 2013. pp. 80.

4. Staheeva M.N., Slonimskaja E.M., Kuharev Ja.V., Garbukov E.Ju., Goreva E.P., Sennikov S.V., Kozlov V.A., Cherdynceva N.V. Vzaimosvjaz urovnja produkcii IL-1 β

kletkami krvi u bolnyh rakom molochnoj zhelezy s razlichnym ishodom // Citokiny i vospalenie. 2010. T. 9, no. 3. pp. 72–73.

5. Cherdynceva N.V., Staheeva M.N., Litvjakov N.V., Babyskina N.N., Malinovskaja E.A., Slonimskaja E.M. Citokiny v patogeneze zlokachestvennyh novoobrazovanij // Citokiny i vospalenie. 2005. no. 2. pp. 103.

6. Cherdynceva N.V., Staheeva M.N., Litvjakov N.V., Babyskina N.N., Malinovskaja E.A., Slonimskaja E.M. Citokiny v patogeneze zlokachestvennyh novoobrazovanij // Citokiny i vospalenie. 2005. no. 2. pp. 103.

7. Chochieva A.R. Himioprofilaktika raka molochnoj zhelezy v jeksperimente: avtoref. dis. ... dokt. med. nauk. Staraja Kupavna, 2010. pp.47.

8. Alyamkina E.A., Leplina O.Y., Sakhno L.V., Chernykh E.R., Ostanin A.A., Efremov Y.R., Shilov A.G., Proskurina A.S., Orishchenko K.E., Dolgova E.V., Rogachev V.A., Nikolin V.P., Popova N.A., Zagrebelnyy S.N., Bogachev S.S., Shurdov M.A. Effect of double-stranded DNA on maturation of dendritic cells in vitro. // Cellular Immunology. 2010. Vol. 266. pp. 46–51.

9. Boon T. and van den Eynde B. Tumour immunology // Current Opinion in Immunology. 2003. Vol.15, no. 2. pp. 129–130.

10. Nicolini A., Carpi A., and Rossi G. Cytokines in breast cancer // Cytokine & Growth Factor Reviews. 2006. Vol. 17, no. 5. pp.325–337.

11. Purohit A., Newman S. P., and Reed M. J. The role of cytokines in regulating estrogen synthesis: implications for the etiology of breast cancer. // Breast Cancer Research. 2002. Vol. 4, no.2. pp. 65–69.

12. Sivaparvathi M., R. Sawaya R., Wang S.W. Overexpression cytokines during the progression of human gliomas // Clin. Exp. Metastasis. 1995. Vol. 13, no.1. pp. 49–56.

13. Waugh D.J., Wilson C. The interleukin-8 pathway in cancer. // Clin. Cancer Res. 2008. Vol. 14. P. 6735–6741.

14. Wang T.B., Deng M.H., Qiu W.S., Dong W.G. Association of serum vascular endothelial growth factor-C and lymphatic vessel density with lymph node metastasis and prognosis of patients with gastric cancer. // World J Gastroenterol. 2007. Vol. 13. pp.1794–1797.

15. Wilson J. and Balkwill F. The role of cytokines in the epithelial cancer microenvironment. // Seminars in Cancer Biology. 2002. Vol. 12, no. 2. pp. 113–120.

Рецензенты:

Бгатова Н.П., д.б.н., профессор, заведующая лабораторией ультраструктурных исследований, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии», г. Новосибирск;

Мичурина С.В., д.м.н., профессор, руководитель группы гистолимфатических отношений, главный научный сотрудник лаборатории функциональной морфологии лимфатической системы, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии», г. Новосибирск.