

ОСОБЕННОСТИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ НАРУШЕНИЙ ИММУННОГО ОТВЕТА, ОБУСЛОВЛЕННЫХ ПРИМЕНЕНИЕМ ЦИКЛОФОСФАМИДА

П. Ф. Забродский, Г. С. Терентюк, И. А. Плахута, В. В. Серов
Саратовский военно-медицинский институт

В экспериментах на беспородных и линии СВА мышах установлено: иммуномодуляторы – Т-активин, миелопид и полиоксидоний, применяемые ежедневно в дозе 10 мкг/кг в течение 10 дней, при использовании циклофосфамида в режиме повышенной "дозовой плотности" способствуют существенному восстановлению активности естественных клеток-киллеров, антителозависимой клеточной цитотоксичности, функции макрофагов.

Ключевые слова: циклофосфамид, иммунодепрессия, коррекция, иммуномодуляторы.

FEATURES OF PHARMACOLOGICAL REGULATION OF IMMUNE RESPONSE DISTURBANCES CAUSED BY CYCLOPHOSPHAMIDE

P. F. Zabrodskii, G. S. Terentiuk, I. A. Plakhuta, V. V. Serov

Abstract. In experiments on outbred and CBA line mice we have established that such immunomodulators as T-activine, mielopide and polyoxidonium in the dose of 10 µg/kg daily for ten days while administering cyclophosphamide as a "dose-dense" chemotherapy invoked significant restorative activity of natural killers, antibody-dependent mediate cell-mediated cytotoxicity, function of macrophages.

Key words: cyclophosphamide, immunosuppression, correction, immunomodulators.

Важнейшей составляющей современной химиотерапии является иммунореабилитация, направленная на реадaptацию поврежденной иммунной системы до уровня, достаточного для обеспечения как противинфекционной, так и противоопухолевой устойчивости организма. При лечении большинства злокачественных опухолей с успехом применяется циклофосфамид (ЦФ) – цитостатическое алкилирующее средство. Однако хорошо известно, что ЦФ проявляет выраженное иммунодепрессивное действие, демонстрируя супрессорную активность как в отношении пролиферирующих, так и "покоящихся" иммунокомпетентных клеток [5, 7]. Препарат является цитотоксичным для В-лимфоцитов и угнетает их стимулированную пролиферацию, оказывает редуцирующее действие на активность Т-лимфоцитов, ингибируя выработку ими интерлейкина-2, кроме того, он повреждает естественные клетки-киллеры – ЕКК [6]. Эти особенности высокоэффективного в онкологической практике препарата определяют необходимость уточнения способов фармакологической коррекции нарушенных функций иммунной системы путем применения иммуномодулирующих средств.

К иммуномодуляторам, восстанавливающим функционирование фагоцитов и ЕКК, а также дефекты гуморального иммунитета, относят полиоксидоний (ПО); средством, восстанавливающим гуморальный иммунитет, считают миелопид; к препаратам, регулирующим функционирование Т-клеточного звена причисляют Т-активин [4]. Так, иммуностимулирующий эффект Т-активина обусловлен активацией Т-лимфоцитов и макрофагов, участвующих в реализации Т-зависимых

иммунных реакций и антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ) ЕКК [3]. Действие миелопида обусловлено не только его активирующим влиянием на В-клеточные иммунные реакции [4], но прямо или косвенно и на другие иммунные реакции [2, 5]. Учитывая эффективность Т-активина [2] и миелопида [5] при некоторых иммунодефицитных состояниях, целесообразно провести сравнительную оценку их действия на иммунные реакции после применения ЦФ [2, 6, 7, 9]. Иммуностимуляция при использовании ПО связана с его антиоксидантным, иммунокорректирующим, детоксикационным, гепатопротективным, а также мембраностабилизирующим действиями [8]. Следует полагать, что обусловленные влиянием ЦФ нарушения иммунного гомеостаза могут быть в определенной степени восстановлены применением ПО.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценить сравнительную эффективность Т-активина, миелопида и ПО при фармакологической коррекции нарушений иммунного ответа, развившихся при моделировании в экспериментах на животных методики использования ЦФ в режиме повышенной "дозовой плотности" [11].

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводились на беспородных и линии СВА мышах обоего пола массой 18–22 г. ЦФ вводили внутрибрюшинно в дозе 150 мг/кг на 1, 4 и 7-й дни исследования [11, 12]. Иммуностимуляторы – Т-активин, миелопид, ПО – вводили внутримышечно ежедневно в дозе 10 мкг/кг с 1-го по 10-й день исследования. Показатели системы

иммунитета оценивали через 10 суток после совместного применения ЦФ и иммуномодуляторов методами, общепринятыми в экспериментальной иммунофармакологии [2]. Гуморальную иммунную реакцию к Т-зависимому (эритроцитам барана – ЭБ) и Т-независимому (Vi-Ag) антигенам определяли по числу антителообразующих клеток (АОК) в селезенке через 4 суток после внутрибрюшинной иммунизации неинбредных мышей данными антигенами в дозах $2 \cdot 10^8$ клеток и 8 мкг/кг соответственно на 6-е сут. после применения препаратов. В использованных тестах гуморальная иммунная реакция на введение ЭБ характеризуется способностью макрофагов и Т-лимфоцитов участвовать в продукции В-лимфоцитами (плазматическими клетками) IgM, а на введение Vi-Ag – способность В-клеток синтезировать IgM [5]. АЗКЦ (функцию К-клеток) исследовали спектрофотометрически с использованием спленоцитов на 10-е сутки от начала использования препарата у иммунизированных 10^8 ЭБ беспородных мышей на 6-е сутки после иммунизации. Активность ЕКК определяли по показателю естественной цитотоксичности (ЕЦ) спектрофотометрически.

Способность макрофагов к индукции гуморального иммунного ответа (СМИГИО) исследовали по числу АОК к ЭБ у мышей-реципиентов линии СВА. Макрофаги от сингенных мышей-доноров переносили реципиентам на 10-е сут. после комбинированного применения изучаемых препаратов. За 1,5 ч до переноса перитонеальных макрофагов в брюшную полость мышам-донорам вводили $2,5 \cdot 10^6$ ЭБ в 0,1 мл физиологического раствора [10]. Полученные данные обрабатывали статистически с использованием *t*-критерия достоверности Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Применение ЦФ вызывало вторичное иммунодефицитное состояние, которое характеризовалось значимой редукцией Т-зависимого антителообразования (числа АОК к ЭБ) и Т-независимой антителопродукции (числа АОК к Vi-Ag). Так, число АОК к ЭБ и Vi-Ag снижалось соответственно в 4,57 и 4,38 раз ($p < 0,05$) (табл. 1). При этом по сравнению с показателями после изолированного воздействия ЦФ, миелопид, Т-активин и ПО, применявшиеся комбинированно с цитостатиком, повышали тимусзависимое антителообразование соответственно в 3,34; 2,56 и 3,09 раз ($p < 0,05$), а Т-независимое – в 3,16; 2,62 и 2,81 раз ($p < 0,05$) соответственно.

В результате изолированного воздействия ЦФ существенно снижались активность ЕКК, АЗКЦ, а также способность макрофагов к индукции гуморального иммунного ответа – соответственно в 3,24; 3,41 и 3,48 раз ($p < 0,05$). Применение миелопида, Т-активина и ПО в комбинации с ЦФ вызывало увеличение по сравнению с параметрами после воздействия только цитостатика ЕКК в 1,99; 2,4 и 2,74 раза ($p < 0,05$); АЗКЦ – в 2,0; 2,50 и 2,93 раза соответственно ($p < 0,05$), а способ-

ность макрофагов к индукции гуморального иммунного ответа – в 2,39; 2,82 и 3,14 раз (табл. 2).

Таблица 1

Влияние иммуностимуляторов на гуморальные иммунные реакции мышей после воздействия ЦФ ($n = 8-12$), $M \pm m$

Серии опытов	АОК к ЭБ, 10^3	АОК к Vi-Ag, 10^3
Контроль	39,8±2,8	30,2±2,3
ЦФ	8,7±0,9*	6,9±0,8*
ЦФ + миелопид	29,1±2,1**	21,8±2,2**
ЦФ + Т-активин	22,3±2,0**	18,1±1,8**
ЦФ + ПО	16,9±1,6**	14,4±1,3**

Примечание. Здесь и далее в табл. 2: * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем; ** – $p < 0,05$ по сравнению с контролем и показателем при использовании ЦФ.

Таблица 2

Влияние иммуностимуляторов на клеточные иммунные реакции мышей и СМИГИО после воздействия ЦФ ($n = 8-12$), $M \pm m$

Серии опытов	ЕЦ, %	АЗКЦ, %	СМИГИО, АОК к ЭБ, 10^3
Контроль	32,1±2,1	10,9±0,9	9,8±0,7
ЦФ	9,9±0,1,1*	3,2±0,3*	2,8±0,2*
ЦФ + миелопид	19,7±1,4**	5,9±0,5**	6,7±0,8**
ЦФ + Т-активин	23,8±1,9**	7,5±0,6**	7,9±0,6**
ЦФ + ПО	28,1±1,7**	9,4±0,7**	8,8±0,8**

Механизм редукции ЦФ гуморальных, клеточных иммунных реакций и способности макрофагов к индукции гуморального иммунного ответа обусловлен истощением В-клеточно-зависимых пулов в селезенке и лимфоузлах, супрессией функции моноцитарно-макрофагальной системы, прямого повреждения ЦФ незрелых компонентов костномозговой ткани с последующим сокращением числа и снижением активности эффекторных клеток вследствие алкилирования молекул энзимов макрофагов и иммунокомпетентных клеток, а также в результате перекрестного связывания цепи ДНК и нарушения их деления продуктами метаболизма ЦФ [5].

Изучение сравнительной эффективности иммуномодуляторов на модели применения ЦФ с большой "плотностью" дозы [11] показало, что по степени эффективности в отношении гуморального иммунного ответа иммуностимуляторы в порядке увеличения эффекта располагались в последовательности: миелопид, Т-активин, полиоксидоний, а в отношении клеточного иммунного ответа – в последовательности: полиоксидоний, Т-активин, миелопид. Степень повышения способности макрофагов к индукции гуморального иммунного ответа исследованных препаратов увеличивалась в порядке: полиоксидоний, Т-активин, миелопид.

Отдельными авторами высказывается предположение, что антитела при определенных условиях могут блокировать взаимодействие эффекторов противоопухолевого иммунитета с клетками-мишенями опухоли, тем самым благоприятствуя иммуностимуляции опухолевого роста [6, 12]. Учитывая данный феномен и результаты наших исследований, следует полагать, что в качестве наиболее эффективного препарата для коррекции иммунодефицита, обусловленного химиотерапией ЦФ, целесообразно рассматривать ПО как препарат активирующий преимущественно клеточное звено иммунитета. Следует отметить, что иммунореабилитирующее (иммунопротективное) воздействие полиоксидония реализуется путем повышения продукции Т-лимфоцитами цитокинов, стимулирующих синтез иммуноглобулинов. Полиоксидоний также увеличивает синтез мононуклеарами IL-2, являющегося одним из индукторов функциональной активности цитотоксических клеток, а также IL-1 и факторов некроза опухоли (α и β), играющих ключевую роль в запуске "цитокиннового каскада", обеспечивающего защиту организма от цитостатического воздействия ЦФ [1].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате экспериментальной оценки сравнительной эффективности Т-активина, миелопида и ПО при фармакологической регуляции нарушений иммунного ответа, развившихся при моделировании на животных методики использования ЦФ в режиме повышенной "дозовой плотности", можно заключить, что

иммуномодулирующие свойства полиоксидония наиболее соответствуют потребностям клиники при коррекции данной разновидности иммунодепрессии. В качестве препарата выбора у больных, получающих химиотерапию ЦФ в режиме "высокой плотности" дозы, не исключается использование Т-активина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бережная Н. М., Чехун В. Ф. Система интерлейкинов и рак. – Киев: ДИА, 2000. – 224 с.
2. Забродский П. Ф., Лим В. Г., Мальцева Г. М. и др. Иммуотропные свойства холинергических веществ / Под ред. П. Ф. Забродского. – Саратов: Научная книга, 2005. – 251 с.
3. Имантаева Г. М. // Аллергол. и иммунология. – 2005. – Т.6. – № 2. – С. 246–247.
4. Нестерова И. В. // Там же. – С. 139–140.
5. Райт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология / Пер. с англ. – М.: Мир, 2000. – 582 с.
6. Савцова З. Д., Шпильова С. I., Тарутинов В. I. // Онкология. – 2000. – № 4. – С. 267–271.
7. Хаитов Р. М., Игнатъева Г. А., Сидорович И. Г. Иммунология. – М.: Медицина, 2000. – 430 с.
8. Хаитов Р. М., Пинегин Б. В. // Иммунология. – 2005. – Т. 26, № 4. – С. 197–201.
9. Цепелев В. Л., Цепелев С. Л., Курупанов С. И. // Бюлл. СО РАМН. – 2003. – №1. – С. 84–86.
10. Argyris B. F. // Immunol. – 1967. – Vol. 99, № 4. – P. 744–750.
11. Fornier M., Norton L. // Breast Cancer Res. – 2005. – Vol. 7. – P. 64–69.
12. Gilewski T., Norton L. // Diseases of the Breasts / Ed. by J. R. Harris and M. E. Lippman. – Philadelphia, 1996. – P. 751–768.

УДК 616–006.04–091.8

О НЕКОТОРЫХ ПАРАМЕТРАХ, ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ДЛЯ ОЦЕНКИ КЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ОРГАНОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ

И. П. Шабалкин, И. Г. Богуш, А. С. Ягубов

Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина РАМН, г. Москва

С помощью метода цитофотометрии установлено, что такие параметры, как критерий $K_{\text{фаген}}$ и модальный класс клеток, можно использовать для оценки функционального состояния клеточной популяции.

Ключевые слова: клеточная популяция, цитофотометрия.

ON SOME PARAMETERS USED FOR EVALUATION OF CELL POPULATIONS UNDER DIFFERENT INFLUENCES

I. P. Shabalkin, I. G. Bogush, A. S. Yagubov

Abstract. Cytophotometric method was helpful in establishing that such parameters as K_{genfa} criterion and the modal class of cells can be used for estimation of functional state of cell population.

Key words: cell population, cytophotometry.

Анализ морфо-функционального состояния популяций клеток свидетельствует, что под

влиянием различных факторов может меняться их функциональное состояние [3, 4]. Поскольку