

© Артёмов О. В., Бурячківський Е. С.

УДК 616-006.6-091:616-092.9

Артёмов О. В., *Бурячківський Е. С.

ДИНАМІКА ІМУНОЛОГІЧНИХ ЗМІН В ПРОЦЕСІ НЕОАД'ЮВАНТНОЇ ТЕРАПІЇ РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ РТУТЬВМІСНИХ ХЕЛАТНИХ КОМПЛЕКСІВ

ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії

ім. В. П. Філатова НАМН України» (м. Одеса)

*Одеський національний медичний університет (м. Одеса)

edik1973@ukr.net

Робота є фрагментом ініціативного наукового дослідження.

Вступ. У структурі наукових досліджень при раку молочної залози (РМЗ) велике місце займає імунологічна тематика. В останнє десятиліття найавторитетніші американські журнали презентували серію статей, які доводять чільну роль імунної системи людини в прогнозі РМЗ [5-8]. Більшість висновків зроблено при вивченні взаємодії між Т-хелперними (CD4), Т-цитотоксичними (CD8) лімфоцитами та макрофагами, присутніми в тканині пухлини, тобто інтратуморальними клітинами імунної системи. Показано важливу прогностичну роль кількості і якісного складу інтратуморальних лімфоцитів, особливо CD8+ і Т-цитотоксичних клітин, в прогнозі РМЗ. Результати цих робіт проливають світло на те, які клітини імунної системи є найбільш важливими з точки зору протипухлинного імунітету, і націлюють на пошук імунологічних шляхів впливу для активації даних клітинних типів. Дослідження в цьому напрямку особливо широко стали проводитися з впровадженням в клінічну практику моноклональних антитіл як до лейкоцитарних молекул, так і до антигенів і рецепторів, специфічних для епітеліальних клітин.

Тривале проведення променевої та хіміотерапії нерідко веде до істотного пригнічення показників імунітету і порушення імунологічного гомеостазу. З урахуванням цього особливий інтерес представляє динаміка змін лімфоцитів CD3, CD4, CD8, індексу CD4 / CD8 та ін. На цьому тлі, як показано в наших попередніх дослідженнях, особливо актуально використання лікарських препаратів, що володіють імуноотропним ефектом [1-4].

Мета дослідження. З'ясувати імунологічні ефекти препаратів на основі хелатних ртутьвмісних комплексів (РВК), що застосовуються одночасно з неоад'ювантною хіміотерапією при раку молочної залози.

Об'єкт і методи дослідження. Для вирішення поставленого завдання було вивчено дві групи хворих на рак молочної залози: 1 група (30 осіб) –

неоад'ювантна хіміотерапія за схемою АС (адриабластин + циклофосфан) на тлі РВК (досліджувана група); 2 група (30 осіб) – неоад'ювантна хіміотерапія за схемою АС (адриабластин + циклофосфан) без РВК (група контролю). Пацієнти отримували препарати на основі РВК в проміжках між 1-3 курсами за стандартною схемою (перорально, одноразово – 7 г/добу; в даному дослідженні використовувався препарат фірми «Меркурід», в основі якого хелатні сполуки ртуті з амінокислотою цистеїн).

В ході дослідження у пацієнтів враховувалися вихідні параметри РМЗ за допомогою фізикального, мамографічного, цитологічного і гістоморфологічного методів. Також досліджувався стан життєво важливих систем організму перед початком лікування (ЕКГ, загальний аналіз крові, протеїнограма). Оцінка результатів неоад'ювантної хіміотерапії у хворих на рак молочної залози (контрольна група) проводилася за допомогою фізикального, мамографічного та гістологічного (ступінь патоморфозу) методів дослідження. Імунологічна динаміка оцінювалася за характером субпопуляційних змін лейкоцитів, що виявляються специфічними моноклональними антитілами до відповідних CD факторів за стандартною методикою [1,3].

Результати дослідження та їх обговорення.

Як показало дослідження, у хворих на РМЗ знижується вміст лейкоцитів, лімфоцитів за рахунок клітин з фенотипом CD3+ і CD8+ як наслідок не тільки пухлинної інтоксикації, але і наслідків хіміотерапії. Внаслідок зниження рівня CD8 + - лімфоцитів, індекс CD4/CD8 підвищується. У хворих на РМЗ з початково зниженим числом CD3+ і CD4+ клітин, відбувається відновлення цих показників. При цьому прийом РВК не чинив стимулюючого впливу на показники хворих з початково нормальною кількістю Т-лімфоцитів і Т-хелперів. Прийом РВК сприяв збільшенню числа лімфоцитів з 1,3±0,4% до 2,4±0,9%. У групі контролю, зміни не мали настільки вираженого характеру – 1,4±0,3% до 1,5±0,7% відповідно. Найбільш значимі зміни були пов'язані зі збільшенням числа CD3+ і

CD8+, а також з нормалізацією імунорегуляторного індексу CD4/CD8 (табл. 1).

Представляє також інтерес динаміка зміни кількості лімфоцитів з фенотипом CD16 (NK-клітини). Нормальні кілери – NK (від англ. Natural killer) – складають близько 5% від лімфоцитів в периферичній крові. Ці клітини не проходять диференціювання в тимусі, виходять з кісткового мозку в кров і потім мігрують в тканини, де здійснюють вроджений імунний захист, що зветься природною цитотоксичністю, яка особливо важлива при пухлинному процесі. У цитоплазмі NK-клітин містяться численні гранули, які містять перфорин і гранзіми. Крім того, NK-клітини продукують TNF- α , який може індукувати апоптоз клітин-мішеней. NK-клітинний дефіцит посилюється в міру пухлинної прогресії і тому залежить від клінічної стадії захворювання. Так, в нашому випадку 68% пацієнток на початок терапії мали змінену кількість NK-клітин (CD16). При прийомі РВК відзначалося підвищення цього показника в порівнянні з контрольною групою. Так, при прийомі РВК поліпшення показників до нормального рівня відзначено у 76% пацієнтів, у контрольній групі у 34%. Загальна динаміка представлена в таблиці 2.

Особливий інтерес представляє динаміка зміни кількості лімфоцитів з фенотипом CD25, CD95, що безпосередньо пов'язано з апоптозом. В рамках імунної системи апоптоз розглядається не тільки як механізм негативної селекції аутореактивних клонів в онтогенезі, а й як ключовий механізм регуляції Т-клітинного гомеостазу. Розвиток імунологічного дисбалансу, порушення активації лімфоцитів, цитокінового статусу, яке спостерігається при хіміотерапії у онкологічних хворих, супроводжується зміною експресії CD95 і пов'язане з аномальним апоптозом імуніцитів. У зв'язку з цим оцінка числа CD95-експресуючих лімфоцитів може стати цінним доповненням до характеристики субпопуляційної структури в комплексній оцінці імунного статусу і визначення прогнозу.

У дослідженні більшість пацієнтів (87%) мали підвищену експресію Fas-рецептора CD95+ і знижену до інтерлейкіну-2 (CD25), що характерно не тільки для Th2 варіанту відповіді імунної системи, але і для гіперпродукції прозапальних цитокінів. CD95 (Fas або APO1) – трансмембранний глікопротеїн, який належить до сімейства фактора некрозу пухлин. Зв'язування цієї молекули з Fas-лігандом призводить до індукції програмованої клітинної загибелі CD4+, CD8+, CD16+ клітин. Так, можна припустити, що високий рівень CD95+ і фактору некрозу пухлини призводить до апоптичної загибелі активованих лімфоцитів. В групі, що приймала РВК, помічено підвищення експресії лімфоцитів з фенотипом CD25+ та зниження CD95+, що корелює зі збільшенням продукції інтерлейкіну-2 – цитокіну, який підвищує цитолітичну функцію Т-кілерів і NK-клітин, збільшує продукцію цими клітинами перфоринів і інтерферону- γ . Зниження експресії CD95 +

захищає лімфоцити від апоптичної загибелі. В імунологічній динаміці це виражається підвищенням кількості CD4+, CD8+, CD16+ клітин в порівнянні з групою контролю (табл. 3).

Відомо, що в пухлинних осередках присутні клітини, в яких відбувається стійка експресія CD38. CD38 підвищується при карциномі молочної залози, починаючи з другої стадії пухлинного росту і зберігається підвищеним на наступних стадіях незалежно від місця розташування вогнищ метастазування. Найбільш високий вміст досліджуваного антигену спостерігається при комбінованій гістологічній структурі пухлини, статистично достовірно підвищені рівні CD38 зберігаються як при наявності поодиноких, так і множинних осередків ураження. Розглядають модель участі CD38 антигену в обмеженні процесів міграції мононуклеарних клітин із судинного русла в тканинний простір і відповідно до місця локалізації пухлини, що відображає один із шляхів, за допомогою яких формуються механізми вислизання пухлинних клітин з під наглядом з боку імунної системи. Таким чином, CD38 доцільно використовувати в якості прогностичного показника в процесі лікування РМЗ (табл. 4).

Таблиця 1.

Динаміка змін лімфоцитів CD3, CD4, CD8 і індексу CD4/CD8 в ході лікування при РМЗ

Показник	Норма	Основна група		Контрольна група	
		До	Після	До	Після
Лімфоцити	1,5x3x10 ⁶	1,3±0,4	2,4±0,9	1,4±0,3	1,5±0,7
Т-лім.-CD-3	800-2000	712±112	1243±165	791±106	853±273
Т-лім.-CD-4	400-1200	589±137	892±198	591±173	681±154
Т-лім.-CD-8	100-700	112±23	315±35	108±21	161±54
CD-4/CD-8	2-4	4,5±1,2	2,5±0,3	4,3±0,7	4,1±0,4

Таблиця 2.

Динаміка зміни кількості лімфоцитів з фенотипом CD16 в ході неoad'ювантної терапії РМЗ

Група	Норма	До лікування	Після лікування
РВК	10-20%	7,4±2,5	13,2±1,2
Контроль	10-20%	7,3±1,8	9,5±1,8

Таблиця 3.

Динаміка зміни лімфоцитів CD25, CD95 в ході неoad'ювантної терапії РМЗ

Показник	Норма	Основна група		Контрольна група	
		До	Після	До	Після
Т-лім.-CD-25	10-18%	9,3±1,5	14,2±1,8	9,7±1,4	10,9±1,3
Т-лім.-CD-95	10-29%	25,6±3,2	17±1,9	24,8±3,6	22,4±3,1
CD-25/CD-95	0,5-1,8	0,3±0,07	0,83±0,08	0,39±0,06	0,48±0,05

Таблиця 4.

Динаміка зміни лімфоцитів CD38 в ході лікування РМЗ

Група	Норма	До лікування	Після лікування
РВК	150-600	788±213	312±116
Контроль	150-600	801±198	592±187

Вивчення взаємозв'язку імунної реакції зі ступенем поширеності РМЗ дало можливість з'ясувати важливу роль CD45 – антигену лейкоцитів, що належать до сімейства тирозинфосфатазних рецепторів. Так, зі зменшенням загального рівня лейкоцитарної інфільтрації (CD45+) вірогідно збільшується частота метастатичного ураження регіонарних лімфовузлів. На нашу думку, загальний рівень місцевої імунної реакції, оцінений за CD45, може бути самостійним чинником сприятливого прогнозу у хворих на РМЗ. Як показало наше дослідження, цей рівень зріс з $11,9 \pm 2,1\%$ до $21,4 \pm 3,6\%$ в групі, що отримувала РВК, тоді як в групі контролю ріст становив $15,6 \pm 2,9$ в порівнянні з $12,3 \pm 2,8\%$ до лікування.

Висновки. Препарати на основі РВК добре переносяться, не викликаючи звикання і розвитку побічних реакцій. Використання їх в комплексній терапії забезпечує каскад адаптивних імунологічних протипухлинних реакцій організму, що веде до підвищення ефективності і переносимості хіміотерапії, зменшення побічних ефектів. Серед імунологічних ефектів РВК треба відзначити: запобігання апоптичної загибелі імунних клітин, індукованої як пухлиною,

так і хіміотерапією; збільшення числа лімфоцитів з фенотипом CD3, CD4, CD8; нормалізація імунорегуляторного індексу CD4/CD8; зростання кілерної активності NK-клітин. Крім того, зниження експресії CD38 запобігає ефекту імунного вислизання пухлини, а активізація CD45 збільшує шанси на виживання пацієнта.

Перспективи подальших досліджень. Сучасні хіміотерапевтичні препарати, мають обмеження, що обумовлені токсичністю, яка стримує їх використання в протипухлинній терапії. Тому пошук нових молекул для терапії раку продовжує залишатись актуальною проблемою. Препарати на основі РВК розширюють спектр потенційних таргетних протипухлинних лікарських засобів. Відсутність в них побічного токсичного ефекту відкриває перспективу їх використання самостійно або в комплексі з відомими хіміопрепаратами при ракових захворюваннях різної локалізації. Все це потребує подальшого дослідження лікувальної дії РВК в комплексі з вивченням імуноморфологічних механізмів, через які можливо реалізувати таргетні ефекти.

Література

1. Артемов А.В. Иммунологические механизмы противоопухолевого действия ртутьсодержащих препаратов на основе хелатных наноконплексов / А.В. Артемов, Э.С. Бурячковский // Збірник матеріалів міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні питання розвитку медичних наук у ХХІ столітті», Львів, 29-30 травня. – Львів, 2015. – С. 109-112.
2. Артемов А.В. Нетоксическая лекарственная терапия рака: патофизиологические механизмы и клинические особенности / А.В. Артемов. – Харьков, ИД «Ридер», 2003. – 154 с.
3. Артемов А.В. Особенности связывания ртутьсодержащих комплексов с сигнальным рецептором лимфоцитов у пациентов с различными типами злокачественных опухолей / А.В. Артемов, Э.С. Бурячковский // Збірник тез наукових робіт учасників міжнародної науково-практичної конференції «Медична наука та практика ХХІ століття», 5-6 лютого 2016 р. – Київ, 2016. – С. 8-11.
4. Артемов А.В. Оценка противоопухолевого и антитоксического эффекта ртутьсодержащих хелатных комплексов в неоадьювантной химиотерапии рака молочной железы / А.В. Артемов, Э.С. Бурячковский // Збірник матеріалів міжнародної науково-практичної конференції «Пріоритетні напрями вирішення актуальних проблем медицини», 15-16 червня 2015 р. – Дніпропетровськ, 2015. – С. 6-10.
5. Atalay G. Novel therapeutic strategies targeting the epidermal growth factor receptor (EGFR) family and its downstream effectors in breast cancer / G. Atalay, F. Cardoso, A. Awada [et al.] // Ann Oncol. – 2003. – № 14. – P. 1346-1363.
6. Nahta R. Growth factor receptors in breast cancer: potential for therapeutic intervention / R. Nahta, G.N. Hortobagyi, F.J. Esteva // The Oncologist. – 2003. – № 8. – P. 5-17.
7. Stern D.F. Tyrosine kinase signalling in breast cancer: ErbB family receptor tyrosine kinases / D.F. Stern // Breast Cancer Res. – 2000. – № 2. – P. 176-183.
8. Yarden Y. Biology of HER2 and its importance in breast cancer / Y. Yarden // Oncology. – 2001. – № 61(suppl 2). – P. 1-13.

УДК 616-006.6-091:616-092.9

ДИНАМІКА ІМУНОЛОГІЧНИХ ЗМІН В ПРОЦЕСІ НЕОАД'ЮВАНТНОЇ ТЕРАПІЇ РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ РТУТЬВІСНИХ ХЕЛАТНИХ КОМПЛЕКСІВ

Артьомов О. В., Бурячківський Е. С.

Резюме. Вивчено імунологічні ефекти препаратів на основі хелатних ртутьвмісних комплексів (РВК), що застосовуються одночасно з неоад'ювантною хіміотерапією при раку молочної залози. Показано, що препарати на основі РВК добре переносяться, не викликаючи звикання і розвитку побічних реакцій. Використання їх в комплексній терапії забезпечує каскад адаптивних імунологічних протипухлинних реакцій організму, що веде до підвищення ефективності і переносимості хіміотерапії, зменшення побічних впливів. Серед імунологічних ефектів РВК треба відзначити: запобігання апоптичної загибелі імунних клітин, індукованої як пухлиною, так і хіміотерапією; збільшення числа лімфоцитів з фенотипом CD3, CD4, CD8; нормалізація імунорегуляторного індексу CD4/CD8; зростання кілерної активності NK-клітин. Крім того, зниження експресії CD38 запобігає ефекту імунного вислизання пухлини, а активізація CD45 збільшує шанси на виживання пацієнта.

Ключові слова: рак молочної залози, неоад'ювантна терапія, імуноморфологія.

УДК 616-006.6-091:616-092.9

ДИНАМИКА ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ПРОЦЕССЕ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ТЕРАПИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ПРИМЕНЕНИЕМ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ РТУТЬСОДЕРЖАЩИХ ХЕЛАТНЫХ КОМПЛЕКСОВ

Артемов А. В., Бурячковский Э. С.

Резюме. Изучены иммунологические эффекты препаратов на основе хелатных ртутьсодержащих комплексов (РСК), применяемых одновременно с неoadьювантной химиотерапией при раке молочной железы. Показано, что препараты на основе РСК хорошо переносятся, не вызывая привыкания и развития побочных реакций. Использование их в комплексной терапии обеспечивает каскад адаптивных иммунологических противоопухолевых реакций организма, что ведёт к повышению эффективности и переносимости химиотерапии, уменьшению побочных влияний. Среди иммунологических эффектов РСК надо отметить: предотвращение апоптической гибели иммунных клеток, индуцированной как опухолью, так и химиотерапией; увеличение числа лимфоцитов с фенотипом CD3, CD4, CD8; нормализация иммунорегуляторного индекса CD4/CD8; рост киллерной активности NK-клеток. Кроме того, снижение экспрессии CD38 предотвращает эффект иммунного ускользания опухоли, а активизация CD45 увеличивает шансы на выживание пациента.

Ключевые слова: рак молочной железы, неoadьювантная терапия, иммуноморфология.

UDC 616-006.6-091:616-092.9

THE DYNAMICS OF IMMUNOLOGIC CHANGES DURING NEOADJUVANT THERAPY OF BREAST CANCER WITH THE USE OF MERCURY-BASED CHELATES PREPARATIONS

Artemov A. V., Buryachkovsky E. S.

Abstract. Immunological topics take a great importance in the structure of scientific research in breast cancer. In the last decade authoritative American journals have produced a series of articles proving the dominant role of the human immune system in the prognosis of breast cancer. Most of the findings are made in the study of the interaction between T-helper (CD4), T-cytotoxic (CD8) lymphocytes and macrophages present in tumor tissue, i. e. intratumoral cells of the immune system.

An important prognostic role of the amount and qualitative composition of intratumoral lymphocytes, in particular CD8 + and T-cytotoxic cells, is shown in the prognosis of breast cancer. The results of these studies shed light on that what cells of the immune system are most important in terms of antitumor immunity, and are aimed at searching for immunological pathways to influence the activation of these cell types. Studies in this direction have been particularly widely carried out with the introduction into clinical practice of monoclonal antibodies to both leukocyte molecules and to antigens and receptors specific for epithelial cells.

Long-term radiation and chemotherapy often leads to a significant inhibition of immunity and impaired immunological homeostasis. In view of this the dynamics of changes in CD3, CD4, CD8, CD4/CD8 and some other is of particular interest. Against this background, as shown in our previous studies, it is especially important to use drugs that have an immunotropic effect.

We studied the immunological effects of drugs on the basis of chelate complexes of mercury used simultaneously with neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. It is shown that chelate complexes of mercury drugs are well tolerated without causing addiction and the development of adverse reactions. Their use in combination therapy provides a cascade of adaptive immunological anti-tumor reactions of the organism, which leads to increased efficiency and tolerability of chemotherapy, reduce side effects. Among immunologic effects should be noted such as preventing apoptotic death of immune cells induced by tumor and chemotherapy; increase in the number of lymphocytes with a phenotype CD3, CD4, CD8; normalization of CD4/CD8 regulatory index; growth killer activity of NK-cells. In addition, the reduced expression of CD38 prevents the effect of tumor immune escape, and CD45 activation increases the chances of patient survival.

Modern chemotherapeutic drugs have limitations due to toxicity which inhibits their use in antitumor therapy. Therefore, the search for new molecules for cancer therapy continues to be an urgent problem. Preparations based on chelate complexes of mercury expand the range of potential targeted antitumor drugs. The absence of an adverse toxic effect opens up the prospect of using them alone or in combination with known chemotherapeutic agents for cancer diseases of different localization. All this requires further study of the therapeutic effect of chelate complexes of mercury in conjunction with the study of immunomorphologic mechanisms through which targeted effects can be realized.

Keywords: breast cancer, neoadjuvant therapy, immunomorphology.

Рецензент – проф. Скрипник І. М.

Стаття надійшла 03.02.2017 року