

ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ Т-ЛИМФОЦИТОВ СЕЛЕЗЁНКИ НА ФОНЕ ХИМИЧЕСКОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗА

Н.В. Дубинина

Национальный фармацевтический университет (Харьков)

Введение

Экологический кризис, осложненный в ряде регионов Украины и других стран СНГ чрезвычайными ситуациями, без сомнения, способствует дальнейшему росту онкологических заболеваний [1]. Согласно данным литературы примерно 80-90% опухолей у человека возникают при индукции рака химическими канцерогенами [2]. Несмотря на большие противоречия, имеющиеся в литературе по вопросам онкологии можно утверждать, что система иммунитета играет в этиопатогенезе злокачественного роста существенную роль [3-6]. Углублённое изучение общего и локального иммунного статуса на фоне развития неопластом - актуальная задача современной онкоиммунологии.

Одним из направлений, при этом, является необходимость исследований в области коррекции иммунологических нарушений, наблюдаемых при злокачественном росте.

Целью представленной работы стало изучение корреляционных количественных и качественных изменений иммунного ответа при индуцированном канцерогенезе.

Материалы и методы исследования

Для изучения функционального состояния тимоцитов и Т-лимфоцитов селезёнки на фоне химического канцерогенеза в качестве индуктора опухолей использован диметилбензантрацен (ДМБА).

В эксперименте были использованы крысы линии Вистар обоих полов массой 120–140 г, ДМБА вводили подкожно в область бедра в дозе 2 мг в 0,2 мл оливкового масла. Появление первых опухолей, гистологически идентифицированных как фибросаркомы, имело место через 4-4,5 месяца. Ретроспективно исследуемые животные были разделены на 3 группы: 1-я – опухоленосители с массой опухоли от 0,5 г до 10 г (ранний период); 2-я – опухоленосители с массой опухоли

ли 20–50 г (период прогрессивного роста опухоли); 3-я – животные с массой опухоли более 70 г (терминальный период развития опухоли).

На следующем этапе эксперимента взяты мыши линии А/Sn и С57BL/6. Исследования проведены на базе НИИ микробиологии и иммунологии им. И.И. Мечникова АМН Украины.

Полученные результаты и их обсуждение

Химическому канцерогенезу присущ длительный латентный период, на фоне которого происходят глубокие нарушения организменного гомеостаза, затрагивающие, в частности, систему иммунитета. Эти особенности позволяют рассматривать химический канцерогенез как адекватную модель изучения участия тимуса в регуляции иммунологических взаимодействий в системе «опухоль-организм».

Анализ результатов эксперимента показал, что по мере развития индуцированных ДМБА опухолей происходит прогрессивное уменьшение общего числа тимоцитов. При этом параллельно увеличивается их средняя электрофоретическая подвижность (ЭФП) причем, анализ гистограмм ЭФП тимоцитов свидетельствует о том, что этот сдвиг происходит за счет нарастания фракции зрелых медуллярных тимоцитов. Так, процент клеток с ЭФП более 1,0 был $22,0 \pm 1,2$; $22,5 \pm 2,7$ и $33,8 \pm 2,2\%$ соответственно в 1-й, 2-й, 3-й группах опухоленосителей при $16,0 \pm 1,8\%$ в контроле. Хотя абсолютное количество тимоцитов было относительно стабильно ($18-20 \cdot 10^6$ клеток), внутри этой фракции существенно возросло число клеток, характеризующихся экстраординарно высокими параметрами. По данным литературы, такого рода клеточные формы, относящиеся к числу активно функционирующих зрелых Т-лимфоцитов, сосредотачиваются в медуллярной части тимуса [7-8]. Напротив, и относительное и абсолютное число низкоподвижных незрелых тимоцитов по мере развития химически индуцированной опухоли, уменьшается. Речь идет, очевидно, о незрелых кортикальных тимоцитах, что согласуется с данными литературы об инволюции коркового слоя тимуса при опухолевой ситуации [9-10]. Инволюция коры тимуса и уменьшение в нём числа незрелых тимоцитов неоднократно описывались в литературе на различных моделях злокачественного роста [11-12]. Несмотря на происходящие сдвиги функциональная, в том числе пролиферативная активность кортикальных тимоцитов, сохранялась на достаточно высоком уровне, о чем свидетельствует отсутствие существенных нарушений профиля распределения низкоподвижных тимоцитов у животных 1-й и 2-й групп.

Углубленное изучение состояния функциональной активности популяции тимоцитов и Т-лимфоцитов селезенки проведено на мышах линии A/Sn и C57BL/6. Показано, что общее число тимоцитов в латентную фазу химического канцерогенеза существенно не меняется, снижаясь, однако, по мере появления опухолей. В дальнейшем развивается гипоплазия тимуса, степень которой существенно варьирует в зависимости от генотипической принадлежности животных, а также их индивидуальных особенностей. Функциональная активность кортикальных незрелых тимоцитов, оцениваемая по включению ^3H -тимидина *in vitro*, на фоне латентного периода существенно не менялась; у опухоленосителей пролиферативный потенциал тимоцитов снижался, причем этот сдвиг коррелировал с изменениями клеточности тимуса (табл. 1).

Таблица 1

Количество, спонтанная пролиферация и активность в СКП 1 тимоцитов мышей линии A/Sn и C57BL/6 при ДМБА-индуцированном канцерогенезе

Показатель	Линия мышей	Группа животных		
		контроль	латентный период	опухоль
Количество клеток $\times 10^6$	A/Sn	31,4 \pm 3,6	32,3 \pm 4,0	12,5 \pm 3,9*
	C57B/6	58,5 \pm 3,7	61,5 + 5,4	43,6 \pm 6,3*
Спонтанная пролиферация имп/мин $\times 10^3$	A/Sn	49,2 \pm 4,6	51,8 + 8,2	16,8 + 5,0*
	C57B/6	38,6 \pm 2,8	35,0 \pm 2,4	27,8 \pm 2,6*
Пролиферация в СКП имп/мин $\times 10^3$	A/Sn	3,02 \pm 0,40	4,42 \pm 0,92	4,60 \pm 1,42*
	C57B/6	2,14 \pm 0,16	3,18 + 0,28*	4,47 \pm 0,54*

Примечание: * – достоверность различий с контролем, $P < 0,05$.

Изменения эти были значительными, в отдельных случаях имело место 3-4 - кратное уменьшение активности по сравнению с контролем. Функциональная активность зрелых медуллярных клеток, тестируемая в смешанной культуре лимфоцитов (СКЛ), увеличивалась в индуктивную фазу канцерогенеза, достигая максимальной степени у опухоленосителей (табл. 1).

Реакция зрелых тимоцитов на аллоантигены на всех этапах канцерогенеза не снижается, что свидетельствует об отсутствии тотальной иммунодепрессии даже на поздних этапах развития опухоли. Полученные результаты существенно отличаются от некоторых

данных литературы, которые свидетельствуют о снижении пролиферативного потенциала тимоцитов при индукции химическим канцерогеном опухолей мочевого пузыря [13]. Можно предположить, что причина угнетения функциональной активности тимоцитов состоит в уменьшении продукции гормонов тимуса, поскольку указанный сдвиг корректируется введением тимоптина.

Изменения функциональной активности спленоцитов имели противоположный знак по отношению к сдвигам, наблюдаемым в тимусе (табл. 2).

Таблица 2

Количество, спонтанная пролиферация и активность в СКП 1 спленоцитов мышей линий A/Sn и C57BL/6 при ДМБА-индуцированном канцерогенезе

Показатели	Линия мышей	Группа животных		
		контроль	латентный период	опухоль
Количество клеток $\times 10^6$	A/Sn	113,0 \pm 9,0	105,0 \pm 5,0	247,0 \pm 22,01*
	C57BL/6	114,0 \pm 6,0	113,0 \pm 8,0	224,0 \pm 21,01*
Процент Т-лимфоцитов	A/Sn	33,3 \pm 4,7	38,0 \pm 2,0	35,0 \pm 4,0
	C57BL/6	29,7 \pm 3,8	25,9 \pm 3,9	13,9 \pm 3,3*
Спонтанная пролиферация, имп/мин $\times 10^3$	A/Sn	12,4 \pm 1,4	36,4 \pm 10,0*	135,0 \pm 28,0*
	C57BL/6	18,6 \pm 2,6	26,8 \pm 3,2	80,0 \pm 10,0*

Примечание: * – достоверность различий с контролем, $P < 0,05$.

В результате исследования число кариоцитов в тимусе снижалось, а количество спленоцитов у мышей-опухоленосителей существенно возрастало. Корреляционная зависимость клеточности селезенки от массы опухоли была невысокой и непостоянной (она отмечена только у мышей линии A/Sn). Относительное число Т-лимфоцитов в селезенке оставалось или стабильным (мышь линии A/Sn), или существенно снижалось (опухоленосители линии C57BL/6). Спонтанная пролиферация тимоцитов по мере развития процесса прогрессивно увеличивалась, достигая максимума у опухоленосителей. Активность спленоцитов в СКЛ оказывалась угнетенной уже в латентный период канцерогенеза и характеризовалась низкими цифрами в дальнейшем. Указанные сдвиги имеют четко реципрокный характер, подтверждается результатами корреляционного анализа возникших взаимоотношений. Налицо

высокозначимая корреляция гипоплазии тимуса у мышей линии A/Sp с увеличением общего числа тимоцитов и их спонтанной пролиферации ($r=0,77$; $r=0,73$ соответственно; $P<0,05$). Отрицательная, хотя и менее выраженная связь отметим также у мышей линии C57BL/6 между клеточностью тимуса, с одной стороны и количеством и спонтанной пролиферацией тимоцитов – с другой ($r=0,54$; $P<0,05$). У них же обнаружена сильная связь гипоплазии тимуса и снижения активности спленоцитов в СКЛ ($r=0,83$; $P<0,001$). Эти данные свидетельствуют о том, что химически индуцированный канцерогенез сопровождается резким усилением клеточных миграционных потоков в системе тимус – селезенка. Судя по всему, значительная часть тимоцитов не погибает, а передислоцируется в тимусзависимые зоны селезенки, вызывая нарастание, здесь, общего клеточного пула и, по видимому, функциональную перестройку этого основного периферического звена системы иммунитета. Всё сказанное относится, прежде всего, к активно пролиферирующим незрелым кортикальным клеткам тимуса. Зрелые тимоциты гораздо крепче привязаны к эндоекологической зоне своего обитания. Незрелые тимоциты, покидающие зобную железу и мигрирующие в селезенку, обладают сильными неспецифическими супрессорными свойствами. Это обстоятельство позволяет рассматривать миграционный поток в системе тимус-селезенка как одну из возможных причин снижения активности периферических Т-лимфоцитов в СКЛ.

Выводы

1. Изменения клеточной популяции тимуса на фоне развития химически индуцированной опухоли характеризуются с качественной стороны увеличением доли зрелых клеток и уменьшением незрелых форм соответственно. Такой дисбаланс можно интерпретировать как истощение клеточного резерва, которое может привести в итоге к развитию глубокого Т-клеточного иммунодефицита.

2. На фоне развития индуцированной канцерогеном опухоли имеют место глубокие количественные и качественные изменения со стороны как центрального (тимус) и периферического (селезенка) звена иммунитета.

3. Вне зависимости от линейной принадлежности мышей, полученные данные свидетельствуют о наличии близкого сравнительного механизма вовлечения тимуса в регуляцию активности мигрирующих Т-лимфоцитов в процессе химического канцерогенеза. Существенная

сторона этих явлений состоит в резком усилении миграционных потоков в системе тимус – селезенка, которое, вероятно, представляет собой лишь часть общей картины изменения миграционных взаимоотношений между отдельными звеньями системы иммунитета в условиях развития экспериментальной опухоли вообще.

Литература

1. Медико-социальные последствия ядерных катастроф / Н.В. Васильев, В.И. Мальцева, В.Н. Коваленко [и соавт.]. - К.: Здоровье, 1999. - 296 с.
2. Белицкий В.А. Генетический полиморфизм и вариабельность химического канцерогенеза / В.А. Белицкий, М.Г. Якубовская // Биохимия. - 2008. - № 73(5). - С. 675-689.
3. Гумен А.В. Цитотоксическая активность натуральных киллерных клеток селезенки крыс при стрессе и ее коррекция короткими иммуномодулирующими пептидами / А.В. Гумен, С.Н. Шанин, И.А. Козинец [и соавт.] // Цитокины и воспаление. - 2006. - Т. 5, № 2. - С. 37-41.
4. Хаитов Р.М. Генетика иммунного ответа и вакцины будущего / Р.М. Хаитов, Л.П. Алексеев // Вестник РАМН. - 1999. - № 4. - С. 9-18.
5. Cancer diather / А.М. Berghella, I. Contasta, P.Pellegrini [e.a.] // Radiopharm. - 2003. - Vol.17, № 1. - P. 43.
6. Up-regulation of matrix metalloproteinase-9 in T lymphocytes of mammary tumor bearers: role of vascular endothelial growth factor / J.L. Owen, V. Iravavarapu-Charyulu, Z. Gunja-Smith [e.a.] // J. Immunol. - 2003. - Vol.171, № 8. - P. 4043-4051.
7. Блохин Г.В. Характеристика пролиферативной активности тимоцитов и лимфоцитов периферической крови потомства самок с хроническим экспериментальным поражением печени различной этиологии / Г.В. Блохин, А.А. Федосов // Морфология. - 2006. - № 1. - С. 57-59.
8. Гранов А.М. Парадоксы злокачественного роста и тканевой несоместимости / А.М. Гранов, А.Н. Шутко. - СПб.: Гиппократ, 2002. - 224 с.
9. Transplantable subcutaneous hepatoma 22f affects functional activity of resident tissue macrophages in periphery / E.P. Kisseleva, A.V. Krylov, O.I. Stepanova, V.I. Lioudyno [Электронный ресурс] // Int.J.Cell.Biol. - 2011. - Vol. 2011 (793034). - Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3132540>.
10. Киселева Е.П. Роль нейрональных и ангиогенных факторов в механизмах инволюции тимуса при опухолевом росте / Е.П.Киселева // Мед. акад. журн. - 2010. - Т.10, № 4. - С. 201-209.
11. Михайлова Г.И. Сравнительная характеристика структурно-функциональных изменений селезенки потомства самок крысы с экспери-

ментальным хроническим поражением печени различной этиологии / Г.И. Михайлова, Г.В. Брюхин // *Морфология*. - 2005. - № 3. - С. 48-51.

12. Роль естественных супрессорных клеток во взаимодействии гемопоэтической и иммунной систем / Ю.П. Белинский, Н.В. Белинская, М.Г. Данилец [и соавт.]. // *Экспериментальная и клиническая медицина*. - 2003. - № 2. - С. 36-43.

13. Wada A. Nature of the charge distribution in proteins. II. Effect of atomic partial charges on ionic charges / A. Wada, H. Nakamura, T. Sakamoto // *Jpn. J. Phys. Soc.* - 1985. - № 54. - P. 4042-4046.

Резюме

Дубинина Н.В. Изменение функциональной активности Т-лимфоцитов селезенки на фоне химического канцерогенеза.

Изучались изменения клеточной популяции тимуса на фоне химически индуцированной диметилбензантраценом опухоли. Показано истощение клеточного резерва с последующим развитием Т-клеточного иммунодефицита и вовлечением периферического звена иммунитета, проявляющееся в усилении миграционных потоков в системе тимус-селезенка.

Ключевые слова: тимоциты, Т-лимфоциты, опухоли, канцерогенез.

Резюме

Дубинина Н.В. Зміна функціональної активності Т-лімфоцитів селезінки на фоні хімічного канцерогенезу.

Вивчалися зміни клітинної популяції тимуса на тлі хімічно індукованої диметилбензантраценом пухлини. Показано виснаження клітинного резерву з подальшим розвитком Т-клітинного імунodefіциту і залученням периферичної ланки імунітету, що виявляється в посиленні міграційних потоків у системі тимус-селезінка.

Ключові слова: тимоцити, Т-лімфоцити, пухлини, канцерогенез.

Summary

Dubinina N.V. Changes in functional activity of T lymphocytes of spleen on the background of chemical carcinogenesis.

Changes in the cell population of thymus against dimethylbenz(a)anthracene chemically induced tumors. Were examined cell depletion allowance and the subsequent development of T-cell immunodeficiency, and the involvement of peripheral immunity were displayed which, manifested in increasing of migration in the system thymus-spleen.

Key words: thymocytes, T-lymphocytes, tumor, carcinogenesis.

Рецензент: д.мед.н., проф. О.І. Залюбовська

УДК 617.736-005:616.379-008.64-097-092.18

ЗМІНИ ЗАГАЛЬНОГО ІМУННОГО СТАТУСУ ПРИ ДИФУЗНОМУ ТА УСКЛАДНЕНОМУ ДІАБЕТИЧНОМУ МАКУЛЯРНОМУ НАБРЯКУ РІЗНИХ ВИДІВ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ II ТИПУ ПІСЛЯ ПРОВЕДЕННЯ ІМУНОКОРЕКЦІЇ

О.В. Зборовська, Н.І. Прейс

ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова
НАМН України»

Введення

За даними ВООЗ, в світі нараховується більше 150 млн. хворих цукровим діабетом (ЦД), кількість хворих прогресивно зростає у всьому світі, збільшується і поширеність діабетичних ускладнень.

Прояви ЦД на очному дні включають діабетичну ретинопатію (ДР) та діабетичний макулярний набряк (ДМН). Саме ДМН являється найбільш розповсюдженою причиною зниження зору у пацієнтів з ЦД II типу. Він може супроводжувати будь-яку стадію захворювання і в середньому зустрічається в 10 % пацієнтів з ЦД. Частота розвитку ДМН корелює з давністю ЦД - після 20 років протікання захворювання ДМН зустрічається в 28 % випадків. До факторів ризику розвитку ДМН відносяться: неадекватний контроль глікемії (високий рівень глікірованого гемоглобіну), тривалість діабету, артеріальна гіпертензія, дисліпідемія, протеїнурія [6]. Ключовою ланкою патогенезу ДМН є накопичення рідини в екстрацелюлярному просторі сітківки внаслідок дисбалансу гематоретинального бар'єру [2, 3, 5]. Щорічно число хворих збільшується на 5-7 %, кожні 12-15 років подвоюється, і вважають, що до 2025 року воно досягне 300 млн. Відповідно Early Treatment Diabetic, макулярний набряк являється серйозною проблемою охорони здоров'я. В розвинутих країнах це ведуча причина сліпоты у віковій групі від 20 до 64 років [11]. Прогноз для зору при ДР у хворих на ЦД II типу погіршує розвиток ДМН, частота виявлення якого складає 32,8%. Своєчасно проведене лікування ДМН в 25% випадків дозволяє зберегти високу гостроту зору і якість життя пацієнтів [1].

В.Ф. Эггардт дослідив системний та місцевий імунітет за концентрацією імуноглобулінів (Ig) класу А, М, G та C3- і C4-компонентів