

ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИНТЕРФЕРОНОВОГО СТАТУСА У БОЛЬНЫХ МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННЫМ РАКОМ ПОЧКИ В ДИНАМИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

© 2019 г. Л. М. Куртасова^{1*}, Р. А. Зуков¹, А. А. Савченко²,
Н. А. Шакина³

*E-mail: kurtasova.lm@mail.ru

¹ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, Красноярск, Россия;

²ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», обособленное подразделение «НИИ медицинских проблем Севера», Красноярск, Россия;

³КГАУЗ Красноярский краевой центр профилактики и борьбы со СПИД, Красноярск, Россия

Поступила: 19.07.2019. Принята: 25.08.2019

Целью исследования явилось изучение показателей сывороточного α - (IFN- α) и γ -интерферона (IFN- γ), уровней спонтанной и стимулированной продукции интерферонов мононуклеарами периферической крови у больных местно-распространенным почечно-клеточным раком в период до операции и через 14 дней после хирургического лечения. Обследованы больные местно-распространенным почечно-клеточным раком (T₃ N₀ M₀) до хирургического лечения и через 14 дней после радикальной нефрэктомии. Концентрацию IFN- α и IFN- γ в сыворотке крови определяли с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА). Уровень спонтанной и стимулированной (конканавалин А) продукции IFN- α и IFN- γ определяли в супернатантах мононуклеаров периферической крови, культивированных в течение 72 часов, методом ИФА. Установлено, что у больных местно-распространенным ПКР как до операции, так и после хирургического лечения наблюдается повышение содержания IFN- α и IFN- γ в сыворотке крови, а также увеличена спонтанная продукция IFN- γ мононуклеарами периферической крови. В динамике, через 14 дней после операции отмечается снижение спонтанной продукции IFN- α в сочетании с повышенной способностью мононуклеаров периферической крови к индуцированной выработке IFN- α и IFN- γ . Выявленный дисбаланс в IFN-продуцирующей системе у больных ПКР в послеоперационном периоде необходимо учитывать при разработке иммунореабилитационных программ у данной категории больных.

Ключевые слова: рак, почка, интерферон, мононуклеары, периферическая кровь

DOI: 10.31857/S102872210007039-7

Адрес: 660022 г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1. Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого, Куртасова Людмила Михайловна. Тел.: 8(391)222-46-26, факс: 8(391)221-16-38.

E-mail: kurtasova.lm@mail.ru

Авторы:

Куртасова Л. М., д.м.н., профессор, профессор кафедры клинической иммунологии, ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, Красноярск, Россия;

Зуков Р. А., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой онкологии и лучевой терапии с курсом ПО, ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, Красноярск, Россия;

Савченко А. А., д.м.н., профессор, заведующий лабораторией клеточно-молекулярной физиологии и патологии, ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», обособленное подразделение «НИИ медицинских проблем Севера», Красноярск, Россия;

Шакина Н. А., к.м.н., врач лабораторной диагностики отделения иммунологических и гематологических исследований, КГАУЗ Красноярский краевой центр профилактики и борьбы со СПИД, Красноярск, Россия.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время установлено, что защита организма от злокачественных опухолей выполняется иммунной системой, которая осу-

ществляет иммунологический надзор за возникновением злокачественно трансформированных клеток и иммунный ответ на образовавшуюся опухоль. В противоопухолевом иммунитете основную роль играют клеточные механизмы, связанные с действием специфических цитотоксических лимфоцитов, Т-эффекторов и клеток системы мононуклеарных фагоцитов, а его результативность зависит от взаимодействия этих клеток между собой. В этом взаимодействии решающую роль играют молекулы адгезии, клеточные рецепторы и цитокины [1, 2, 3].

Интерфероны (IFN) являются цитокинами с широким спектром действия. Противоопухолевое действие IFN опосредуется несколькими механизмами: антипролиферативным эффектом, регуляцией клеточной дифференцировки, ингибированием онкогенов и ангиогенеза, а также иммуномодулирующей активностью [4, 5].

В связи с вышеизложенным, целью данного исследования явилось изучение показателей сывороточного α - и γ -интерферона, уровней спонтанной и стимулированной продукции IFN мононуклеарами периферической крови у больных местно-распространенным почечно-клеточным раком в период до операции и через 14 дней после хирургического лечения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено открытое клиническое проспективное исследование на базе урологического отделения Красноярского краевого клинического онкологического диспансера. Обследованы больные местно-распространенным почечно-клеточным раком ($T_3N_0M_0$) до хирургического лечения ($n=52$) и через 14 дней после радикальной нефрэктомии ($n=45$) в возрасте 40–55 лет. Диагноз почечно-клеточного рака у всех наблюдаемых больных верифицирован гистологически. Контрольную группу составили 30 здоровых доноров крови.

Концентрацию IFN- α и IFN- γ в сыворотке крови определяли с помощью твердофазного иммуоферментного анализа (ИФА) на тест-системах ООО «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург, Россия). В супернатантах мононуклеаров периферической крови, культивированных в течение 72 часов, оценивали уровень спонтанной и стимулированной продукции IFN- α и IFN- γ методом ИФА с помощью тест-систем ООО «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург, Россия). Для стимуляции клеток использовали конканавалин А (Con A) 15 мкг/мл («Sigma», США).

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакета прикладных программ SPSS10,0 и Statistica 6.0. Определяли среднее арифметическое значение (M), ошибку средней арифметической (m). Проверку гипотезы о статической значимости выборок проводили с помощью критерия Манна-Уитни, а также использовали непараметрический критерий Вилкоксона для анализа выборок с попарно связанными вариантами.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полученных данных показал, что количество IFN- α и IFN- γ в сыворотке крови как в период до, так и в период через 14 дней после хирургического лечения в группе больных местно-распространенным почечно-клеточным раком значительно превышает соответствующие значения в контрольной группе ($13,44 \pm 0,42$ – до операции, в контроле – $5,16 \pm 0,24$, $p < 0,05$; $14,18 \pm 0,37$ – после операции; в контроле $5,16 \pm 0,24$, $p < 0,05$; $96,34 \pm 4,02$; – до операции; в контроле – $10,58 \pm 0,21$, $p < 0,001$; $103,07 \pm 0,35$ – после операции; в контроле $10,58 \pm 0,21$, $p < 0,001$, соответственно). Исследование способности мононуклеаров периферической крови к выработке IFN- γ в группе больных ПКР выявило в период до оперативного вмешательства увеличение в 5,75 ($p < 0,001$) раза спонтанной продукции IFN- γ относительно контрольных параметров. При этом показатели ConA-индуцированной продукции IFN- γ в данный период наблюдения у больных ПКР не имели статистически значимых различий с величинами контроля (рис. 1).

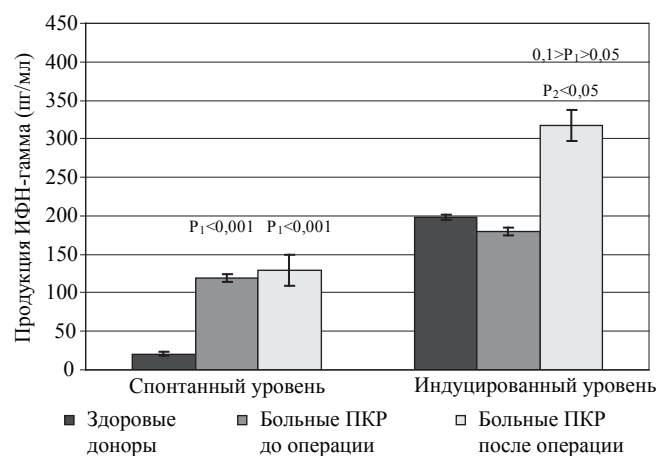


Рис. 1. Уровень синтеза IFN- γ мононуклеарами периферической крови у больных ПКР.

Примечание: p_1 статистически значимые различия с показателями здоровых доноров; p_2 статистически значимые различия с показателями пациентов до хирургического лечения.

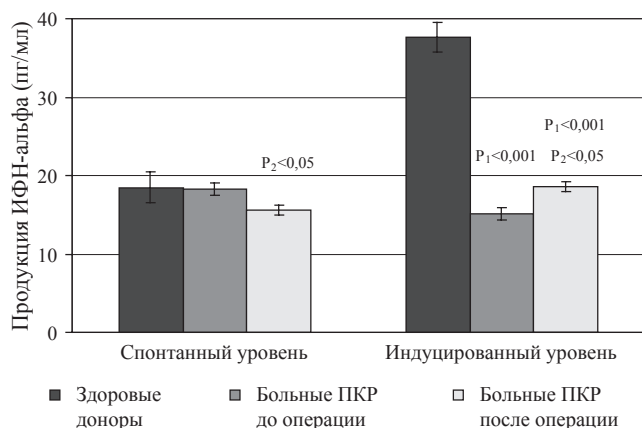


Рис. 2. Уровень синтеза IFN- α мононуклеарами периферической крови у больных ПКР.

Примечание: p_1 статистически значимые различия с показателями здоровых доноров; p_2 статистически значимые различия с показателями пациентов до хирургического лечения.

Результаты проведенного анализа установили, что спонтанная продукция IFN- α мононуклеарами периферической крови в группе больных ПКР в период до операции соответствует показателям контрольной группы (рис. 1). В то время, как уровень ConA-индуцированной выработки IFN- α мононуклеарами периферической крови составляет лишь 41,2% от контрольных величин (рис. 2).

Следовательно, можно констатировать, что у больных местно-распространенным почечно-клеточным раком в период до хирургического лечения наблюдается дисбаланс IFN-продуцирующей системы.

Изучение способности мононуклеаров периферической крови к продукции IFN- α в группе больных ПКР через 14 дней после оперативного вмешательства выявило статистически значимое снижение уровня спонтанной выработки данного цитокина и увеличение митоген-стимулированной по сравнению с исходными показателями (до лечения) (рис. 2). Следует отметить, что уровень ConA-индуцированной продукции IFN- α мононуклеарами периферической крови у больных ПКР в период после операции остается статистически значимо сниженным относительно контрольных величин (рис. 2).

При исследовании способности мононуклеаров периферической крови к продукции IFN- γ в группе больных ПКР в период через 14 дней после хирургического лечения было обнаружено превышение в 6,23 раза ($p < 0,001$) уровня спонтанной выработки данного цитокина по сравнению с контрольной группой. Кроме

того, оказалось, что мононуклеары периферической крови у больных ПКР в данный период наблюдения более активно продуцируют IFN- γ при индукции ConA, чем клетки в период до хирургического лечения. Также наблюдается выраженная тенденция к увеличению уровня митоген-стимулированной продукции IFN- γ мононуклеарами периферической крови относительно соответствующих показателей группы контроля (рис. 1).

Стимуляция продукции IFN- γ , выявленная у больных ПКР, вероятно, отражает развитие Th1 типа иммунного ответа и способствует активации цитотоксических механизмов, направленных на элиминацию опухолевых клеток.

Таким образом, у больных ПКР в период через 14 дней после оперативного вмешательства отмечается положительная динамика изменений параметров интерфероновой системы, однако, полного восстановления IFN-продуцирующей системы не происходит. Так, сохраняется повышенный уровень спонтанной продукции IFN- γ мононуклеарами периферической крови на фоне пониженной способности клеток к выработке IFN- α . Несмотря на увеличение уровня митоген-индуцированной продукции IFN- α относительно исходных показателей (до лечения) концентрация данного цитокина не достигает контрольного уровня. Между тем известно, что нарушение реализации действия интерферонов приводит к невозможности проявления их многочисленных эффектов и нарушению межклеточных взаимодействий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенного исследования было установлено, что у больных местно-распространенным ПКР как до операции, так и после хирургического лечения наблюдается повышение содержания IFN- α и IFN- γ в сыворотке крови, а также увеличена спонтанная продукция IFN- γ мононуклеарами периферической крови. В динамике через 14 дней после операции отмечается снижение спонтанной продукции IFN- α в сочетании с повышенной способностью мононуклеаров периферической крови к индуцированной выработке IFN- α и IFN- γ . Выявленный дисбаланс в IFN-продуцирующей системе у больных ПКР в послеоперационном периоде, вероятно, необходимо учитывать при разработке иммунореабилитационных программ у данной категории больных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/ REFERENCES

1. Шубина И. Ж., Сергеев А. В., Мамедова Л. Т., Соколов Н. Ю., Кисельский М. В. Современные представления о противоопухолевом иммунитете. Российский биотерапевтический журнал 2015, 14(3), 19–28. [Shubina I. Z., Sergeev A. V., Mamedova L. T., Sokolov N. Y., Kiselevsky M. V. Current understanding of antitumor immunity. Russian Journal of Biotherapy. 2015, 14(3), 19–28.]
2. Свитич О. А., Филина А. Б., Давыдова Н. В., Ганковская Л. В., Зверев В. В. Роль факторов врожденного иммунитета в процессе опухолеобразования. Медицинская иммунология 2018, 20(2), 151–162. [Svitich O. A., Filina A. B., Davydova N. V., Gankovskaya L. V., Zverev V. V. The role of innate immunity factors in tumorigenesis process. Medical Immunology (Russia). 2018, 20(2), 151–162.]
3. Топтыгина А. П. Коингибирующие молекулы в норме и при патологии. Контрольные точки (checkpoint) иммунорегуляции. Часть 2. Участие коингибирующих молекул в развитии инфекционной и онкологической патологии. Моноклональные антитела – блокаторы контрольных точек. Российский иммунологический журнал 2018, 12(1), 3–16. [Toptygina A. P. Co-inhibiting molecules in health and disease. Checkpoints of the immunoregulation. Part 2. Participation of co-inhibiting molecules in the development of infectious and oncological pathology. Monoclonal antibodies – checkpoint blockers. Russian Journal of Immunology 2018, 12(1), 3–16.]
4. Наровлянский А. Н., Ершов Ф. И., Гинцбург А. П. Интерфероны: перспективные направления исследований. Иммунология 2013, 3, 168–172. [Narovlyansky A. N., Ershov F. I., Gunzburg A. P. Interferons: promising areas of research. Immunology 2013, 3, 168–172.]
5. Верлан Н. В. Использование интерферонов: иммунологические и клинические аспекты. Цитокины и воспаление 2016, 15(1), 12–21. [Verlan N. V. Use of interferons: immunological and clinical aspects. Cytokines and inflammation 2016, 15 (1), 12–21.]

CHANGES IN THE INTERFERONAL STATUS INDICATORS IN PATIENTS OF THE LOCAL-DISTRIBUTED KIDNEY CANCER IN THE DYNAMICS OF THE DISEASE

© 2019 L. M. Kurtasova^{1*}, R. A. Zukov¹, A. A. Savchenko², N. A. Shakina³

*E-mail: kurtasova.lm@mail.ru

¹Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russia;

²Federal Research Center «Krasnoyarsk Science Center» of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Scientific Research Institute of medical problems of the North, Krasnoyarsk, Russia;

³Krasnoyarsk Regional Center of AIDS prevention, Krasnoyarsk, Russia

Received: 19.07.2019. Accepted: 25.08.2019

The aim of the research was to study the indicators of serum α - (IFN- α) and γ -interferon (IFN- γ), the levels of spontaneous and stimulated production of interferons by peripheral blood mononuclear cells in patients with locally advanced renal cell carcinoma (RCC) before and 14 days after the operation. Patients with RCC (T₃ N₀ M₀) were examined before surgical treatment and 14 days after radical nephrectomy. The concentration of IFN- α and IFN- γ in serum was determined using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The level of spontaneous and stimulated (concanavalin A) production of IFN- α and IFN- γ was determined in the supernatants of peripheral blood mononuclear cells cultured for 72 hours by ELISA. It was found that in patients with locally advanced RCC, both before surgery and after surgical treatment, an increase in serum levels of IFN- α and IFN- γ was observed, and the spontaneous production of IFN- γ by peripheral blood mononuclear cells was also increased. 14 days after surgery there was a decrease in the spontaneous production of IFN- α in combination with an increased ability of peripheral blood mononuclear cells to induce the production of IFN- α and IFN- γ . The identified imbalance in the IFN-producing system in patients with RCC in the postoperative period must be considered when developing immunorehabilitation programs in this category of patients.

Key words: cancer, kidney, interferon, mononuclear cells, peripheral blood

Authors:

Kurtasova L. M., ✉ PhD, MD, professor, professor of the department of clinical Immunology, Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russia. **E-mail:** kurtasova.lm@mail.ru;

Zukov R. A., PhD, MD, professor, head of the department of oncology and radiation therapy with PE course, Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russia;

Savchenko A. A., PhD, MD, professor, head of the laboratory of cell molecular physiology and pathology, Federal Research Center «Krasnoyarsk Science Center» of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Scientific Research Institute of medical problems of the North, Krasnoyarsk, Russia;

Shakina N. A., PhD, doctor of laboratory diagnostics of the department of immunological and hematological research, Krasnoyarsk Regional Center of AIDS prevention, Krasnoyarsk, Russia.