

ЦИТОКИНЫ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ПРОЦЕССЕ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ – ВЛИЯНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ ДОБАВКИ К ПИЩЕ ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ ИЗ МОЛОК ЛОСОСЕВЫХ РЫБ С ВИТАМИНОМ С В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВА СОПРОВОЖДЕНИЯ

Федянина Л.Н.

Лаборатория иммунологии, Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии СО РАМН, г. Владивосток

Резюме. Изучено влияние применения биологически активной добавки (БАД) к пище ДНКaC, включающей биологически активное вещество (БАВ) ДНК из молок лососевых рыб и витамин С в качестве средства сопровождения лучевой терапии у женщин, больных раком молочной железы (РМЖ), на динамику и уровень цитокинов сыворотки крови: ранних гемопоэтических факторов (IL-3, GM-CSF, TNF α) и баланс маркерных цитокинов Th1 и Th2 ответа (IFN γ , IL-10). Установлено иммуномодулирующее действие БАД ДНКaC в отношении всех исследуемых цитокинов. Но в большей степени и статистически значимо, БАД ДНКaC корректирует уровень цитокина GM-CSF, повышает низкий уровень IFN γ и TNF α , снижает высокий уровень IL-10, способствуя, таким образом, восстановлению недостаточности клеточного звена иммунной системы, стабилизации системы кроветворения и полноценной реализации базисного метода лечения онкозаболеваний.

Ключевые слова: цитокины, рак молочной железы, БАД.

Fedyanina L.N.

CYTOKINES IN BREAST CANCER PATIENTS DURING RADIATION THERAPY: COMPLEMENTARY EFFECTS OF BIOLOGICALLY ACTIVE FOOD ADDITIVE CONTAINING SALMON SOFT ROE AND VITAMIN C

Abstract. We studied some effects of a biologically active food additive (BAFA) «DNAaC» which contains DNA from salmon soft roe and vitamin C as active substances. This BAFA was investigated as a complementary remedy during radiation therapy of women with breast cancer (BrC), with respect to dynamics and levels blood serum cytokines, i.e., early hematopoietic factors (IL-3, GM-CSF, TNF α), and balance of marker cytokines for Th1- and Th2-response (IFN γ , IL-10). It was shown that «DNAaC» has modulating effect on secretion of all investigated cytokines. There was, however, a higher and statistically valid corrective effect upon GM-CSF, along with increase of initially low IFN γ and TNF α concentrations, and reduction of initially high IL-10 levels. Hence, «DNAaC» contributes to improvement of cell-mediated immune deficiency, stabilization of hematopoietic system, and brings about tolerance to basic treatment approaches in oncological diseases. (*Med. Immunol.*, 2007, vol. 9, N 4-5, pp 509-512)

Адрес для переписки:

Федянина Людмила Николаевна,
с.н.с. лаборатории иммунологии
НИИ ЭМСО РАМН.

690087, г. Владивосток, ул. Сельская, 1.

Тел./факс: (4232) 44-14-38.

E-mail: fedyanina@pochta.ru

Введение

Онкобольные, получающие лучевую терапию, находятся под воздействием двух главных составляющих их патологического состояния: основного онкозаболевания и дополнительно повреждающего ионизирующего излучения, которые вызывают серьезные изменения в иммунном ответе организма и не позволяют в полной мере реализовать базисные методы лечения [1, 5, 7, 13]. Поэтому включение иммуномодуляторов, нивелирующих иммуносупрессирующее действие лучевой терапии в ее комплекс как средств сопровождения, у онкологических больных является вполне оправданным [13]. Наиболее адекватным вариантом в таких случаях является использование препаратов, обладающих минимальной токсической и антигенной нагрузкой на организм, не имеющих большого числа противопоказаний к применению, оказывающих позитивное воздействие при простых схемах введения. Средствами, отвечающими вышеуказанным требованиям, могут быть и некоторые БАД к пище, естественно прошедшие всестороннее медико-биологическое тестирование и имеющие объективные доказательства иммуностропных эффектов.

На Дальнем Востоке достаточно широко распространена БАД к пище ДНКас, в основе которой лежит БАВ – ДНК из молок лососевых рыб и витамин С. Показано *in vitro* ее выраженное иммуномодулирующее действие, в том числе влияние на секрецию цитокинов, преимущественно способствующих активации Т-клеточной системы иммунитета. БАВ ДНК обладает также противоопухолевыми и радиопротекторными свойствами, повышает неспецифическую резистентность организма [2, 4, 10, 11, 12]. Целью настоящей работы явилось изучение динамики цитокинов у больных РМЖ, получающих лучевую терапию и в комплексе лечения в качестве сопроводительного средства БАД ДНКас.

Материалы и методы

В исследование были включены 55 женщин РМЖ II и III степени тяжести заболевания, проходивших курс послеоперационной лучевой терапии в радиологическом отделении Приморского краевого онкологического диспансера. Лечение больных проводилось на аппарате РОКУС-М в течение 20-22 дней по стандартной схеме радиотерапии. Было сформировано 2 группы больных. Больные первой группы (31 человек) наряду со стандартным лечением получали БАД к пище ДНКас по 1 грамму в сутки в течение 30 дней. Вторую (контрольную) группу составили 24 женщины, получавшие только стандартное лечение.

Возраст пациенток составил от 39 до 69 лет, соотношение больных РМЖ II и III степени тяжести заболевания в контрольной группе составило 1,8:1, в основной – 1,4:1. Данные биомедицинские исследования проводили с разрешения Комитета по биомедицинской этике ГУ НИИЭМ СО РАМН.

Изучали динамику цитокинов IL-3, GM-CSF, TNF α , IFN γ , IL-10 (уровень и частоту выявления в сыворотке крови больных), которые причастны к процессам канцерогенеза, лучевой болезни, вторичных иммунодефицитов наряду с их другими функциями. Показатели оценивали дважды (в 1 и 30 сутки от начала приема препарата), а также в сравнении с показателями цитокинового статуса практически здоровых людей – доноров дальневосточного региона, которые принимали за норму [6]. Уровни цитокинов определяли в сыворотке крови методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа с помощью наборов Duoset (Genzyme diagnostics, Кембридж, США) согласно прилагаемой инструкции.

БАД к пище ДНКас разработана учеными ФГУП «Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр» (ТИНРО-центр) г. Владивостока, разрешена к применению, выпускается в таблетках по 1 грамму. В ее состав входит БАВ ДНК из молок лососевых рыб (79,02% ДНК, 7,8% белка, 2,1% липидов, 10,68% воды) и витамин С [2, 8, 9].

Статистическую обработку полученных результатов исследований проводили с помощью пакета прикладных программ «Statistica 6,0 for Windows 2000» с применением непараметрического Т-критерия Уилкоксона [3].

Результаты и обсуждение

Данные исследований показали, что у больных РМЖ всех групп обследуемых к началу получения стандартного курса послеоперационной лучевой терапии зафиксированы изменения в профиле цитокинов сыворотки крови, свидетельствующие о дисрегуляции этих показателей (табл. 1):

- показатели IL-3, GM-CS, IFN γ были ниже нормы, значительно повышена концентрация TNF α , и только содержание IL-10 не отличалось от показателей практически здоровых людей;

- выражена недостаточность продукции Th1-клетками IFN γ в сравнении с IL-10, в основном вырабатываемого Th2-клетками иммунной системы, индекс соотношения этих цитокинов равен 0,4, при должном 0,9. Дисбаланс цитокинов, вероятно,

ТАБЛИЦА 1. УРОВНИ ЦИТОКИНОВ В ПГ/МЛ У БОЛЬНЫХ РМЖ, ПОЛУЧАЮЩИХ БАД ДНКАС В КОМПЛЕКСЕ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ, В СРАВНЕНИИ С БОЛЬНЫМИ, ПОЛУЧАЮЩИМИ ТОЛЬКО ЛУЧЕВУЮ ТЕРАПИЮ, И ПРАКТИЧЕСКИ ЗДОРОВЫМИ ЛЮДЬМИ – ДОНОРАМИ

№ п/п	Исследуемые цитокины	Цитокины у доноров	Цитокины у больных получающих БАД ДНКАС			Цитокины у больных контрольной группы		
			1 день	30 день	Достоверность различий p 1/30 дни	1 день	30 день	Достоверность различий p 1/30 дни
1.	IL-3	4,8±0,3	1,89±0,55	1,91±0,56	$p = 0,89$	2,9±0,9	3,0±0,7	$p > 0,05$
2.	GM-CSF	4,0±2,0	6,7±2,2	8,5±3,1	$p > 0,05$	4,0±2,0	3,2±1,0	$p > 0,05$
3.	TNF α	4,3±1,2	27,9±5,1	33,4±8,6	$p > 0,048$	31,4±4,8	32,7±4,2	$p > 0,05$
4.	IFN γ	12,7±1,5	3,72±1,28	11,19±6,21	$p = 0,29$	4,9±1,4	10,2±5,7	$p > 0,05$
5.	IL-10	13,9±0,7	14,9±4,1	15,0±7,4	$p = 0,048$	13,4±5,7	10,5±4,6	$p > 0,05$

Примечание: p 1/30 – достоверность различий в уровне цитокинов у больных на 1 и 30 сутки лучевой терапии и приема ДНКАС.

обусловлен множеством факторов, прежде всего, наличием собственно опухолевого процесса, возникновение которого уже говорит о нарушении функции клеточного иммунитета, так как контроль за ростом и регрессией опухоли осуществляют Т-клетки. Это может быть связано с воздействием на организм предыдущих курсов лечения – оперативного вмешательства, предоперационной химио- и радиотерапией, побочным эффектом которых является угнетение системы иммунитета, в основном Т-клеточного ее звена [1, 7, 13].

За период проведения лучевой терапии у всех групп больных уровни IL-3, IL-10, TNF α практически не изменились. Уровень GM-CSF у больных, получающих БАД ДНКАС, увеличился в 1,3 раза, у больных контрольной группы несколько снизился. Уровни IFN γ возросли у больных как в контрольной группе, так и в группе женщин, получающих БАД, в 2,1 и 3 раза соответственно (табл. 1). Однако все изменения были статистически не значимыми и носили характер тенденции. Учитывая, что полученные результаты могут быть в числе прочих факторов, обусловлены гетерогенностью исходных данных, мы изучали

влияние ДНКАС на изменение уровней цитокинов и частоту случаев их повышения и понижения у больных в зависимости от их начального уровня. Для этого все больные, получавшие БАД, были разделены на группы с исходно средне-нормальными и исходно высокими показателями (табл. 2).

Полученные результаты позволили выявить статистически достоверные изменения, свидетельствующие о выраженном иммуномодулирующем действии БАД ДНКАС.

Направленность динамики цитокинов практически не изменилась. Наиболее чувствительным к действию БАД ДНКАС оказался гемопоэтический цитокин GM-CSF, колебания уровня которого как в сторону увеличения, так и в сторону снижения были статистически значимыми. Причем у больных с его исходно средне-нормальным уровнем повышение GM-CSF у 66,7% женщин было очень показательным, концентрация его возросла в 17 раз, снижение же у больных с его высоким уровнем было не столь выраженным, в 75,0% случаев и лишь в 2,7 раза.

ТАБЛИЦА 2. ДИНАМИКА УРОВНЕЙ ЦИТОКИНОВ В ПГ/МЛ У БОЛЬНЫХ РМЖ, ПОЛУЧАЮЩИХ БАД ДНКАС В КОМПЛЕКСЕ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ, В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИХ ИСХОДНОГО УРОВНЯ

№ п/п	Исследуемые цитокины	Группа больных с исходно средне-нормальным уровнем $n = 19$			Группа больных с исходно высоким уровнем $n = 12$		
		1 сутки	30 сутки	p 1/30 сутки	1 сутки	30 сутки	p 1/30 сутки
1.	IL-3	0,5±0,2	1,3±0,4	$p = 0,18$	4,4±1,5	2,0±1,1	$p > 0,054$
2.	GM-CSF	0,5±0,2	8,6±4,4	$p < 0,02$	18,8±4,6	6,9±2,9	$p < 0,05$
3.	TNF α	18,3±3,7	28,2±8,6	$p < 0,05$	57,1±4,8	36,7±9,4	$p > 0,05$
4.	IFN γ	1,2±0,4	16,2±9,9	$p < 0,05$	10,9±4,6	1,5±0,8	$p > 0,062$
5.	IL-10	1,8±1,0	12,1±6,6	$p > 0,048$	79,6±27,5	20,3±12,1	$p < 0,054$

Однако другой гемопоэтический цитокин, IL-3, практически не реагировал на воздействие БАД ДНКас. Наблюдалась только подобная тенденция к повышению уровня IL-3 в 2,6 раза у 59,1% больных с его исходно средне-нормальным уровнем и снижение в 2,2 раза его концентрации в 66,7% случаев в группе обследуемых с исходно высокими его значениями. Не намного ниже, но также достоверно и демонстративно в 81,3% случаев в 13,5 раз увеличился уровень IFN γ у больных с его исходно средне-нормальной концентрацией. В группе с исходно высокими показателями IFN γ в 80% случаев происходило снижение содержания этого цитокина, не достигшее, однако, статистически значимых величин.

Статистически достоверно в 1,5 раза вырос уровень TNF α в сыворотках крови у 73,3% больных с его исходно средне-нормальными показателями, а у 66,7% больных с исходно высокой концентрацией TNF α к 30-м суткам наблюдалась только тенденция к ингибции его выработки.

Исследование результатов иммуномодулирующего действия ДНКас на IL-10 показало, что у 50% больных с исходно средне-низким содержанием IL-10 к 30-м суткам отмечалась тенденция к его повышению, а в группе с исходно высокими показателями в 81,8% случаев – статистически достоверное снижение в 3,9 раза.

Таким образом, применение БАД ДНКас к пище в качестве средства сопровождения лучевой терапии у больных РМЖ оказывает модулирующее действие в отношении всех исследуемых цитокинов сыворотки крови больных. В большей степени, БАД ДНКас корректирует уровень гемопоэтического цитокина GM-CSF, повышает низкий уровень IFN γ и TNF α , снижает высокий уровень IL-10, способствуя восстановлению недостаточности клеточного звена иммунной системы, стабилизации системы кроветворения и полноценной реализации базисного метода лечения онкозаболеваний.

Список литературы

1. Барышников А.Ю. Взаимоотношение опухоли и иммунной системы организма // Практическая онкология. – 2003. – Т. 4. – № 3. – С. 127-130.
2. Беседнова Н.Н., Эпштейн Л.М. Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) из молок рыб – перспективы клинического применения: В помощь практическому врачу. – Владивосток: ТИПРО-центр, 2002. – 38 с.

3. Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика, 1999. – 500 с.

4. Касьяненко Ю.И., Эпштейн Л.М., Гажа А.К., Беседнова Н.Н., Гуляков М.Б., Шуваяев В.Т. Биологически активная пищевая добавка – дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) из молок лососевых // Известия ТИПРО. – 1999. – Т. 125. – С. 139-143.

5. Козлов В.К., Молчанов О.Е., Жарин Г.М. Иммуноterapia рекомбинантными цитокинами в лечении онкологических больных // Успехи клинической иммунологии и аллергологии / Под ред. А.В. Караулова. – 2002. – Т. 3. – С. 263-279.

6. Маркелова Е.В. Система цитокинов у больных с острыми повреждениями легких и клинико-иммунологическое обоснование терапии лейкемифероном: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. – Владивосток, 2000. – 50 с.

7. Мирошник О.А. Возможности иммуномодулирующей терапии в комплексном лечении онкологических больных // Оппортунистические инфекции: проблемы и перспективы: Сб. научн. тр. – Омск: Омская мед. акад., 2002. – С. 21-32.

8. Гаймула М.А, Кална В.Х., Микстайс У.Я., Эпштейн Л.М. Способ получения ДНК из молок рыб. – № 915446; Заявлено 10.10.80; Опубл. 01.07.91.

9. Рег. удостоверение № 004977 от 30.10.2002.

10. Федянина Л.Н. Влияние ДНК из молок лососевых рыб на секрецию цитокинов клетками крови доноров // Мед. иммунология. – 2005. – Т. 7, № 5-6. – С. 617-619.

11. Федянина Л.Н., Зайцева Е.А., Эпштейн Л.М., Беседнова Н.Н., Сомов Г.П. Влияние ДНК из молок лососевых рыб на Т-клеточный иммунитет в эксперименте // Антибиотики и химиотерапия. – 2005. – № 2-3. – С. 14-17.

12. Федянина Л.Н., Потапова В.В., Беседнова Н.Н., Эпштейн Л.М. и др. Влияние низкомолекулярной ДНК из молок лососевых рыб на кроветворение в эксперименте // Антибиотики и химиотерапия. – 2004. – Т. 49, № 4. – С. 7-10.

13. Чернецова Л.Ф., Зотов П.Б. Иммуноterapia сопровождения ликопидом больных распространенными формами злокачественных новообразований // Рос. онкол. журн. – 2001. – № 5. – С. 301-307.

поступила в редакцию 02.10.2006

отправлена на доработку 27.10.2006

принята к печати 30.05.2007