

ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОКИНОВОГО БАЛАНСА ПРИ ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Наталья Петровна ДОМНИКОВА^{1,2}, Татьяна Юрьевна ДОЛГИХ¹,
Юлия Александровна ДЬЯЧКОВА², Елена Евгеньевна ПЕТРУСЕНКО¹,
Татьяна Борисовна КУЗНЕЦОВА², Евгений Владимирович ШОЛЕНБЕРГ¹,
Олег Вадимович РЕШЕТНИКОВ³, Светлана Леонидовна РЫЖИКОВА⁴

¹ НИИ региональной патологии и патоморфологии СО РАМН
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

² ГБУЗ НСО Государственная Новосибирская областная клиническая больница
630087, Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, 130

³ НИИ терапии СО РАМН,
630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1

⁴ ЗАО «Вектор-Бест»
630117, г. Новосибирск-117, а/я 492

Уровень спонтанной и митогениндуцированной продукции про- и противовоспалительных цитокинов у 76 пациентов с хроническим лимфолейкозом, неходжкинскими лимфомами из малых лимфоцитов с опухолевым поражением костного мозга, множественной миеломой и диффузной В-крупноклеточной лимфомой исследован в динамике химиотерапии. Дебют или прогрессия заболевания сопровождаются повышением уровня ряда провоспалительных цитокинов, за исключением ИЛ-2, продукция которого понижена. В стадии ремиссии преимущественно снижен уровень и про- и противовоспалительных цитокинов. Продукция колониестимулирующих факторов повышена как в дебюте или прогрессии, так и в ремиссии лимфопролиферативных заболеваний.

Ключевые слова: цитокины, хронический лимфолейкоз, неходжкинские лимфомы из малых лимфоцитов с поражением костного мозга, множественная миелома, диффузная В-крупноклеточная лимфома.

Цитокины – белковые или полипептидные продукты активированных клеток иммунной системы, которые определяют взаимосвязь клеток в динамике иммунного ответа, при гемопоэзе и развитии воспаления [5]. Изменение продукции цитокинов особенно важно в патогенезе лимфопролиферативных заболеваний, так как субстратом патологического процесса в этом случае являются иммунокомпетентные клетки и

их предшественники – основные продуценты и потребители цитокинов.

Роль большинства цитокинов хорошо изучена при хроническом лимфолейкозе (ХЛЛ), неходжкинских лимфомах из малых лимфоцитов (НХЛ из малых лимфоцитов), множественной миеломе (ММ) и диффузной В-крупноклеточной лимфоме (ДВККЛ) [3, 9, 13]. В то же время состояние цитокиновой системы в динамике

Домникова Н.П. – д.м.н., проф., зав. лабораторией молекулярно-клеточных и иммуноморфологических основ онкогематологии, зав. гематологическим отделением с блоком асептических палат,
e-mail: n_domnikova@mail.ru

Долгих Т.Ю. – старший научный сотрудник, e-mail: tatyana.yurevna.dolgikh@yandex.ru

Дьячкова Ю.А. – врач гематологического отделения с блоком асептических палат,
e-mail: dyachkova_yuliya@mail.ru

Петрусенко Е.Е. – старший научный сотрудник, e-mail: elena_petrusenko@list.ru

Кузнецова Т.Б. – врач гематологического отделения с блоком асептических палат, e-mail: tata1979k@mail.ru

Шоленберг Е.В. – научный сотрудник, e-mail: tevton1350@rambler.ru

Решетников О.В. – ведущий научный сотрудник, e-mail: reshetnikov_ov@mail.ru

Рыжикова С.Л. – научный сотрудник, e-mail: sv_ryzhikova@mail.ru

химиотерапии остается недостаточно исследованным, что касается в первую очередь колоние-стимулирующих факторов.

Кроме того, основная часть опубликованных результатов связана с изучением сывороточной концентрации цитокинов, отражающей иммунологическую реактивность организма в целом. Исследования, посвященные способности клеток крови к секреции цитокинов при лимфопролиферативных заболеваниях *ex vivo*, не многочисленны. Вместе с тем в последние годы появилась возможность проведения работ в этом направлении, используя метод дифференцированного определения спонтанной и митогениндуцированной продукции цитокинов. Определение уровней продукции цитокинов мононуклеарами периферической крови *in vitro* показывает функциональное состояние клеток. Спонтанная продукция цитокинов мононуклеарами в культуре свидетельствует, что клетки уже активированы *in vivo*. Индуцированный (различными стимуляторами, митогенами) синтез цитокинов отражает потенциальную, резервную способность клеток отвечать на антигенный стимул. Сниженная индуцированная продукция цитокинов *in vitro* может служить одним из признаков иммунодефицитного состояния [7].

Цель работы – изучение уровня спонтанной и митогениндуцированной продукции про- и противовоспалительных цитокинов при лимфопролиферативных заболеваниях в фазе дебюта и прогрессии, а также ремиссии (полной или частичной), достигнутой в результате химиотерапии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 76 пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями: 42 человека (27 мужчин, 15 женщин, средний возраст – $58,25 \pm 9,62$ года) с ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, 23 человека (10 мужчин, 13 женщин, средний возраст $59,70 \pm 8,30$ года) с ММ, 11 человек с ДВККЛ (6 мужчин, 5 женщин, средний возраст $52,0 \pm 11,14$ года), находившихся в 2011–2012 гг. на лечении в гематологическом отделении с блоком асептических палат ГБУЗ НСО Государственная Новосибирская областная клиническая больница. Пациенты с ХЛЛ имели В или С стадию по Vinet, у всех пациентов с НХЛ из малых лимфоцитов отмечалось опухолевое поражение костного мозга и IV стадия; среди больных ДВККЛ доминировали III и IV стадии (в соответствии с классификацией, принятой в Ann Arbor (США) в 1971). У большинства больных ММ отмечалась II–III стадия заболевания [14].

Лечение больных ХЛЛ осуществлялось флударабином в сочетании с циклофосфаном (FC) или в комбинации с циклофосфаном и ритуксимабом (FCR). Для лечения больных НХЛ из малых лимфоцитов применялись курсы по схемам COP (циклофосфан, винкристин, преднизолон), RCOP (ритуксимаб, циклофосфан, винкристин, преднизолон), CNOP (циклофосфан, доксорубин, винкристин, преднизолон), RCNOR (ритуксимаб, циклофосфан, доксорубин, винкристин, преднизолон). Терапия пациентов с ММ осуществлялась по схеме VMP (велкейд, мелфалан, преднизолон). Лечение больных ДВККЛ проводили по схемам CNOP и RCNOR.

Фаза дебюта или прогрессии (рецидива) заболевания выявлена у 29 (69,0 %) больных ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, у 19 (82,6 %) больных ММ, а также 6 (54,5 %) пациентов с ДВККЛ. Частичная или полная ремиссия после проведенной химиотерапии отмечена у 13 (31,0 %) пациентов с ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, 4 (17,4 %) пациентов с ММ и 5 (45,5 %) больных ДВККЛ.

У всех пациентов исследовали спектр спонтанной и митогениндуцированной продукции про- и противовоспалительных цитокинов: интерферона- γ (ИНФ- γ), фактора некроза опухоли- α (ФНО- α), интерлейкина- 1β (ИЛ- 1β), интерлейкина-2 (ИЛ-2), интерлейкина-4 (ИЛ-4), интерлейкина-6 (ИЛ-6), интерлейкина-8 (ИЛ-8), интерлейкина-10 (ИЛ-10), интерлейкина-17 (ИЛ-17), интерлейкина-18 (ИЛ-18), антагониста рецепторов интерлейкина-1 (ИЛ-1РА), моноцитарного хемотаксического белка (MCP-1), гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ), гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ), сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF), а также антител к интерферону- α (АТ к ИНФ- α) в динамике химиотерапии: до начала лечения и через 6–8 курсов (через 4–6 месяцев).

Для исследования спонтанной и митогениндуцированной продукции цитокинов клетками крови использовали набор реагентов «ЦИТОКИН-СТИМУЛ-БЕСТ». Непосредственно после отбора из кубитальной вены 1 мл крови вносили во флакон, содержащий 4 мл поддерживающей среды (DMEM), гепарин (2,5 Ед/мл), гентамицин (100 мкг/мл) и L-глутамин (0,6 мг/мл). Этот флакон использовали для изучения спонтанной продукции цитокинов. Для митогенной стимуляции 1 мл полученной разбавленной крови переносили во флакон со смесью поликлональных активаторов: липополисахарида, конканавалина А, фитогемагглютинаина Р и фитогемагглютинаина М. Оба флакона инкубировали в течение

суток при 37 °С, затем клетки крови осаждали на центрифуге при 10000 g в течение 3 мин, супернатант после отделения осадка замораживали и хранили при –40 °С до проведения количественного анализа цитокинов. Концентрацию цитокинов в исследуемых образцах оценивали с помощью соответствующих иммуноферментных наборов реагентов производства ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Концентрация измерялась в пг/мл.

Группу контроля по уровню спонтанной и митогениндуцированной продукции цитокинов клетками крови составил 51 условно-здоровый донор [8].

Результаты представлены в виде $M \pm \sigma$, где M – среднее арифметическое значение, σ – стандартное отклонение. Различия считались достоверными при значении вероятности ошибки (p) < 0,05. Проверку соответствия выборок анализируемых данных по спонтанной и митогениндуцированной продукции цитокинов при ХЛЛ, НХЛ из малых лимфоцитов, ММ и ДВККЛ нормальному закону распределения проводили по критерию Шапиро–Уилка. Сравнения средних значений различных выборок производили с помощью U-теста по методу Манна и Уитни (непараметрического теста), который применяется там, где выборки из переменных, принадлежащих к интервальной шкале, не подчиняются нормальному распределению.

Клинико-морфологические исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с этическими нормами Хельсинкской Декларации (2000 г.). Программа исследования была рассмотрена и одобрена на заседании этического комитета ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, ММ, а также ДВККЛ концентрация исследованных цитокинов: ИНФ- γ , ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-1РА, МСР-1, Г-КСФ, ГМ-КСФ, VEGF, а также АТ к ИНФ- α находится в широких пределах и не подчиняется закону нормального распределения.

Как в дебюте, так и в прогрессии лимфопролиферативных заболеваний выявлено выраженное увеличение спонтанной продукции колониестимулирующих факторов по сравнению с группой контроля: Г-КСФ в 185,3 ($p = 0,002$), 85,2 ($p = 0,047$) и 31,2 раза ($p = 0,002$), ГМ-КСФ в 10,3 ($p = 0,001$), 10,0 ($p = 0,003$) и 8,9 раза

($p < 0,001$) при ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, ДВККЛ, а также ММ соответственно. У пациентов с ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов оказалась повышенной митогениндуцированная продукция Г-КСФ в 1,9 раза ($p = 0,045$).

Обнаружено, что общим для исследуемых нозологий явился повышенный уровень продукции ИЛ-18: спонтанной (в 2,9 раза ($p < 0,001$) при ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, в 4,3 раза ($p = 0,043$) при ДВККЛ) и митогениндуцированной (в 2,5 раза ($p < 0,001$) при ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, в 3,7 раза ($p = 0,035$) при ДВККЛ). При ММ спонтанная продукция ИЛ-18 оказалась увеличенной в 1,8 раза ($p = 0,002$), митогениндуцированная не отличалась от группы контроля ($p = 0,055$).

У пациентов с ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, а также ДВККЛ в дебюте или прогрессии повышен уровень продукции VEGF: в первом случае – митогениндуцированной в 3,4 раза ($p = 0,010$), во втором случае – спонтанной в 2,6 раза ($p = 0,005$). Дебют или прогрессия ММ сопровождается увеличением спонтанной продукции ИЛ-8 в 1,4 раза ($p = 0,027$).

Помимо повышенного уровня цитокинов в дебюте или прогрессии лимфопролиферативных заболеваний отмечено снижение продукции ИЛ-2. Так, спонтанная продукция ИЛ-2 у пациентов с ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов ниже по сравнению с группой контроля в 3,6 раза ($p = 0,048$), у пациентов с ММ – в 2,5 раза ($p = 0,001$), у больных ДВККЛ – в 8,5 раза ($p < 0,001$). Митогениндуцированная продукция ИЛ-2 при ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов снижена в 3 раза ($p < 0,001$), при ММ – в 2,2 раза ($p < 0,001$).

Обнаружено, что ремиссия лимфопролиферативных заболеваний сопровождается только снижением уровня цитокинов. Исключением явилось повышение спонтанной продукции ГМ-КСФ в 4,1 раза ($p = 0,020$) при ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов.

В ремиссии ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов оказалась сниженной спонтанная продукция как провоспалительных цитокинов – ИЛ-8 в 1,2 раза ($p = 0,030$), ИЛ-6 в 5,8 раза ($p = 0,016$), ИЛ-2 в 6,5 раза ($p = 0,025$), ИЛ-17 в 236,1 раза ($p < 0,001$), так и противовоспалительных – ИЛ-4 в 15,2 раза ($p = 0,002$) и ИЛ-10 в 47,1 раза ($p < 0,001$), а также митогениндуцированная продукция ИЛ-10 в 1,2 раза ($p = 0,02$). У пациентов с ММ отмечен пониженный уровень спонтанной продукции противовоспалительных цитокинов: ИЛ-4 в 91,2 раза ($p < 0,001$) и ИЛ-1РА в 1,4 раза ($p < 0,001$). При ДВККЛ выявлено снижение спонтанной продукции провоспалитель-

ного цитокина ИНФ- γ в 9,0 раза ($p < 0,001$), а также митогениндуцированной продукции провоспалительных цитокинов: ФНО- α в 2,7 раза ($p = 0,045$), ИЛ-6 в 2,3 раза ($p = 0,045$), ИЛ-2 в 15,1 раза ($p < 0,001$), и противовоспалительного цитокина ИЛ-4 в 232,3 раза ($p = 0,002$).

Спонтанная и митогениндуцированная продукция остальных цитокинов в дебюте или прогрессии, а также ремиссии лимфопролиферативных заболеваний была не изменена. Достоверной разницы по уровням исследованных цитокинов между ХЛЛ, НХЛ из малых лимфоцитов, ММ и ДВККЛ как в дебюте или прогрессии, так и в ремиссии не обнаружено. Различия по уровню продукции провоспалительных, противовоспалительных цитокинов и колониестимулирующих факторов между контрольной группой и группой пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями в фазе дебюта или прогрессии, а

также между контрольной группой и пациентами в фазе ремиссии представлены в табл. 1, 2 и 3. Обсуждению подлежали только статистически значимые результаты.

Патогенетическая роль Г-КСФ и ГМ-КСФ при ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, ММ и ДВККЛ еще не определена. Однако известно, что при меланоме эти цитокины резко усиливают противоопухолевую активность макрофагов, что позволяет отнести ГМ-КСФ и Г-КСФ к факторам-ингибиторам роста опухоли [4]. В экспериментальных условиях продемонстрированы противоопухолевые свойства ГМ-КСФ: *ex vivo* данный цитокин усиливает активность естественных киллеров, которые распознают и убивают опухолевые клетки [21]; на мышинной модели рака антитело-опосредованная адресная доставка ГМ-КСФ в область неоваскуляризации опухоли подавляет опухолевый рост и метаста-

Таблица 1

Уровень продукции провоспалительных цитокинов в дебюте или прогрессии и ремиссии лимфопролиферативных заболеваний, $M \pm \sigma$

Содержание цитокина, пг/мл	Контрольная группа (n = 51)	Пациенты в дебюте или прогрессии (n = 54)	Пациенты в ремиссии (n = 22)	p
сИЛ-2	2,6 ± 4,8	0,8 ± 1,3	0,8 ± 1,3	$p_{1,2} = 0,003$ $p_{1,3} = 0,046$
мИЛ-2	77,9 ± 87,2	47,8 ± 57,4	55,7 ± 62,6	$p_{1,2} < 0,001$ $p_{1,3} = 0,001$
сИЛ-6	695,9 ± 1827,2	252,6 ± 605,9	170,1 ± 297,6	$p_{1,3} = 0,007$
мИЛ-6	25097,3 ± 17027,9	20223,3 ± 13223,0	18567,8 ± 9174,8	
сИЛ-8	1979,5 ± 2357,8	3637,7 ± 5409,6	937,5 ± 1295,4	
мИЛ-8	32613,7 ± 18904,1	35270,0 ± 33251,4	43493,1 ± 16345,3	
сИЛ-17	4,4 ± 7,0	1,31 ± 3,0	0,3 ± 0,8	$p_{1,3} < 0,001$
мИЛ-17	97,9 ± 126,7	95,6 ± 74,7	75,7 ± 64,7	
сИЛ-18	51,1 ± 17,9	128,1 ± 162,3	94,5 ± 64,0	$p_{1,2} < 0,001$
мИЛ-18	72,8 ± 28,3	113,7 ± 64,0	140,3 ± 79,8	
сФНО- α	36,8 ± 73,4	48,2 ± 134,2	26,3 ± 39,7	
мФНО- α	3866,3 ± 3308,3	2062,3 ± 1021,4	2438,3 ± 1450,4	$p_{1,3} = 0,030$
сVEGF	51,7 ± 35,5	61,5 ± 91,3	45,6 ± 60,4	
мVEGF	34,0 ± 22,9	74,6 ± 84,4	124,8 ± 239,6	
сИНФ- γ	4,9 ± 8,3	47,2 ± 273,4	15,8 ± 28,8	
мИНФ- γ	2367,3 ± 2826,6	1974,1 ± 2074,3	3788,3 ± 3219,9	
сИЛ-1 β	99,7 ± 266,6	181,5 ± 673,2	32,2 ± 43,8	
мИЛ-1 β	2360,3 ± 2226,3	2795,5 ± 2989,8	1578,8 ± 1173,1	
сМСР-1	нет данных	1320,1 ± 1660,7	866,6 ± 1097,7	
мМСР-1	нет данных	4284,8 ± 3785,6	4505,2 ± 2786,9	

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3 обозначены достоверные отличия от величины соответствующего показателя пациентов контрольной группы: $p_{1,2}$ – пациентов с заболеванием в фазе дебюта или прогрессии, $p_{1,3}$ – пациентов с заболеванием в фазе ремиссии.

Таблица 2

Уровень продукции противовоспалительных цитокинов в дебюте или прогрессии и ремиссии лимфопролиферативных заболеваний, $M \pm \sigma$

Содержание цитокина, пг/мл	Контрольная группа 1 (n = 51)	Пациенты в дебюте или прогрессии 2 (n = 54)	Пациенты в ремиссии 3 (n = 22)	p
сИЛ-4	0,03 ± 0,1	0,1 ± 0,3	0,04 ± 0,1	
мИЛ-4	4,6 ± 11,5	4,4 ± 10,0	5,0 ± 11,3	
сИЛ-10	15,6 ± 16,8	8,8 ± 22,4	11,8 ± 16,0	$p_{1,3} < 0,001$
мИЛ-10	231,1 ± 187,7	92,5 ± 83,8	199,8 ± 181,0	$p_{1,3} = 0,002$
сИЛ-1РА	1971,4 ± 2477,1	1566,3 ± 2944,0	938,8 ± 1054,7	
мИЛ-1РА	11773,8 ± 7077,1	20236,3 ± 10060,5	20101,9 ± 11358,9	
сАТ к ИНФ-α	Нет данных	0,4 ± 1,3	0	
мАТ к ИНФ-α	Нет данных	0,4 ± 1,3	0	

Таблица 3

Уровень продукции колониестимулирующих факторов в дебюте или прогрессии и ремиссии лимфопролиферативных заболеваний, $M \pm \sigma$

Содержание цитокина, пг/мл	Контрольная группа 1 (n = 51)	Пациенты в дебюте или прогрессии 2 (n = 54)	Пациенты в ремиссии 3 (n = 22)	p
сГ-КСФ	0,5 ± 1,1	54,8 ± 159,6	7,1 ± 10,5	$p_{1,2} = 0,001$
мГ-КСФ	441,0 ± 186,5	661,2 ± 731,5	591,6 ± 683,6	
сГМ-КСФ	0,4 ± 0,6	3,7 ± 6,8	1,2 ± 2,0	$p_{1,2} < 0,001$ $p_{1,3} = 0,010$
мГМ-КСФ	54,4 ± 33,8	105,8 ± 211,3	96,6 ± 130,9	

зирование [18]. Вероятно, поэтому продукция этих колониестимулирующих факторов усилена в дебюте или прогрессии лимфопролиферативных заболеваний. Наличие противоопухолевой активности у ГМ-КСФ и Г-КСФ, а также ее механизмы при ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, ММ и ДВККЛ требует дальнейшего изучения.

Выявленное в нашей работе повышение спонтанной продукции ИЛ-18 при ММ, спонтанной и митогениндуцированной при ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, а также ДВККЛ в фазе дебюта или прогрессии, возможно, связано с тем, что нарушение продукции данного цитокина и/или его рецепторов опухолевыми клетками в некоторых случаях способствует росту опухоли, как показано при ХЛЛ [10]. В зарубежных исследованиях [11, 16] сывороточный уровень ИЛ-18 коррелирует с более тяжелыми стадиями заболевания, повышенным уровнем ангиогенных цитокинов при ММ, плохим прогнозом при ММ и ДВККЛ.

Обнаружено, что у пациентов с ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, ДВККЛ в фазе дебюта или прогрессии уровень VEGF больше, чем в норме. Известно, что VEGF увеличивает продолжительность жизни опухолевых клеток, а

также стимулирует неоангиогенез, сопровождающийся угрозой метастазирования. В итоге прогрессирует опухоль, развивается резистентность к химиотерапии и уменьшается выживаемость [17]. В данном случае высокий уровень продукции VEGF связан с ростом злокачественной опухоли и метастазированием.

Увеличение спонтанной продукции ИЛ-8 у пациентов с ММ в дебюте или прогрессии заболевания связано с тем, что этот провоспалительный цитокин играет ключевую роль в неоангиогенезе и опухолевой прогрессии [19]. Так, в работе Kuku I. et al. [20] сывороточное содержание ИЛ-8 было повышено в дебюте ММ по сравнению с группой контроля.

Факт снижения спонтанной и митогениндуцированной продукции ИЛ-2 при ММ, ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, а также ДВККЛ в дебюте или прогрессии заболевания требует дальнейшего изучения. В то же время известно, что миеломные клетки продуцируют избыточное количество трансформирующего ростового фактора-β, который подавляет ИЛ-2-опосредованную Т-клеточную пролиферацию и, соответственно, противоопухолевый иммунитет [12].

Взаимоотношения между развивающейся опухолью и иммунной системой оцениваются неоднозначно. Считается, что в определенных обстоятельствах иммунная система не только не отторгает опухоль, но участвует в ее развитии. Так, изначально у пациента с онкологической патологией возникают негативные изменения в иммунной системе, вызванные расстройством обмена веществ – «метаболической иммунодепрессией». При этом одним из ключевых патогенетических факторов развития этих изменений являются провоспалительные цитокины. По ходу опухолевой прогрессии организм все в большей степени использует универсальный вариант реакции – воспалительный тип ответа на новообразование [1].

Ремиссия лимфопролиферативных заболеваний, достигнутая в результате проведенной химиотерапии, сопровождается снижением продукции про- и противовоспалительных цитокинов. С одной стороны, это связано с применением преднизолона и цитостатиков, входящих в схемы лечения. Иммунодепрессивный эффект цитостатических препаратов в основном связан с подавлением кроветворения [6]. Влияние глюкокортикостероидов на иммунную систему опосредовано наличием специфических глюкокортикоидных рецепторов на лимфоидных клетках. Под воздействием стероидов происходит снижение количества лимфоцитов в периферической крови. При этом глюкокортикостероиды вызывают апоптоз незрелых или активированных Т- и В-лимфоцитов, значительно уменьшают продукцию ИЛ-2, в результате чего происходит снижение ИЛ-2-зависимого фосфорилирования различных протеинов. Это приводит к подавлению пролиферации Т-клеток. Кроме того, глюкокортикостероиды подавляют Т-клеточную активацию посредством угнетения продукции ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-6 и других цитокинов. Поскольку глюкокортикостероиды подавляют синтез цитокинов и другими клетками, происходит снижение функции Т-хелперов, Т-супрессоров, цитотоксических Т-лимфоцитов и, в целом, иммунных реакций.

Выраженное действие оказывают глюкокортикостероиды на миграцию, секрецию и функциональную активность макрофагов и моноцитов. Учитывая то, что Т-хелперы, Т-супрессоры, цитотоксические Т-лимфоциты и макрофаги непосредственно участвуют в секреции цитокинов [15], очевидно, что это приводит к снижению продукции последних.

С другой стороны, снижение уровня спонтанной и митогениндуцированной продукции про- и противовоспалительных цитокинов в

ремиссии лимфопролиферативных заболеваний позволяет рассматривать данный факт как возможный дополнительный критерий оценки прогноза.

Повышенная продукция Г-КСФ и ГМ-КСФ при лимфопролиферативных заболеваниях в фазе частичной или полной ремиссии, вероятно, имеет компенсаторный характер в ответ на угнетение миелоидного ростка после проведенной химиотерапии. Известно, что выработка Г-КСФ и ГМ-КСФ происходит по принципу обратной связи и увеличивается, в частности, при нейтропении [2].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изменения баланса цитокинов при ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, ММ, а также ДВККЛ однотипны и обусловлены фазой заболевания: дебютом, прогрессией или ремиссией. Дебют или прогрессия лимфопролиферативных заболеваний сопровождается повышением уровня ряда провоспалительных цитокинов, за исключением ИЛ-2, продукция которого понижена.

На фоне химиотерапии в ремиссии лимфопролиферативных заболеваний наблюдается преимущественно снижение уровня провоспалительных и противовоспалительных цитокинов.

Уровень колониестимулирующих факторов повышен в дебюте или прогрессии ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, ММ и ДВККЛ, а также в ремиссии ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов.

Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП «Современные оптические системы» ФГБУ «НЦКЭМ» СО РАМН в рамках ГК № 16.522.11.7057.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антонов В.Г., Козлов В.К. Патогенез онкологических заболеваний: иммунные и биохимические феномены и механизмы. Внеклеточные и клеточные механизмы общей иммунодепрессии и иммунной резистентности // Цитокины и воспаление. 2004. 3. (1). 8–19.
2. Владимирская Е.Б. Механизмы кроветворения и лейкемогенеза. М., 2007. 150 с.
3. Жевак Т.Н., Чеснокова Н.П., Шелехова Т.В. Закономерности изменений цитокинового статуса при хроническом лимфолейкозе и их роль в патогенезе прогрессирующих форм заболевания // Саратовский науч.-мед. журн. 2012. 8. (2). 203–209.
4. Запорожан В.Н. Молекулярная генетика в клинической медицине: достижения и перспективы // Журн. АМН України. 2003. 9. (4). 638–648.

5. Козлов В.А., Борисов А.Г., Смирнова С.В., Савченко А.А. Практические аспекты диагностики и лечения иммунных нарушений. Новосибирск, 2009. 274 с.
6. Переводчикова Н.И. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний. М., 2011. 512 с.
7. Рыжикова С.Л., Дружинина Ю.Г., Рябичева Т.Г., Вараксин Н.А. Стандартизация методики определения продукции цитокинов клетками крови *ex vivo* // Клин. лаб. диагностика. 2011. (11). 49–53.
8. Рябичева Т.Г., Вараксин Н.А., Тимофеева Н.В. и др. Испытания иммуномодуляторов в системе *ex vivo* // Новости «Вектор-Бест». 2006. 4. (42). 12–14.
9. Серебряная Н.Б., Новик А.А., Волошин С.В., Новицкий А.В. Клиническое значение некоторых цитокинов при злокачественных неходжкинских лимфомах // Цитокины и воспаление. 2002. 1. (3). 21–26.
10. Airoidi I., Raffaghello L., Cocco C. Heterogeneous expression of interleukin-18 and its receptor in B-cell lymphoproliferative disorders deriving from naive, germinal center, and memory B lymphocytes // Clin. Cancer Res. 2004. 10. (1, Pt. 1). 144–154.
11. Alexandrakis M.G., Passam F.H., Sfiridaki K. et al. Interleukin-18 in multiple myeloma patients: serum levels in relation to response to treatment and survival // Leuk. Res. 2004. 28. (3). 259–266.
12. Campbell J.D., Cook G., Robertson S.E. et al. Suppression of IL-2-induced T cell proliferation and phosphorylation of STAT3 and STAT5 by tumor-derived TGF beta is reversed by IL-15 // J. Immunol. 2001. 167. 553–561.
13. Chauhan D., Hideshima T., Anderson K. Cytokines in multiple myeloma. Therapeutic implications // Cytokines in the Genesis and Treatment of Cancer. Part II. Totowa: Humana Press Inc., 2007. 181–197.
14. Durie B.G., Salmon S.E. A clinical staging system for multiple myeloma. Correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival // Cancer. 1975. 36. (3). 842–854.
15. Franchimont D. Overview of the actions of glucocorticoids on the immune response: A good model to characterize new pathways of immunosuppression for new treatment strategies // Ann. N. Y. Acad. Sci. 2004. 1024. 124–137.
16. Goto N., Tsurumi H., Kasahara S. Serum interleukin-18 level is associated with the outcome of patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with CHOP or R-CHOP regimens // Eur. J. Haematol. 2011. 87. (3). 217–227.
17. Kaiser R., Dubovy P., Haninec P. Vascular endothelial growth factor // Cesk. Fisiol. 2011. 60. (2). 48–51.
18. Kaspar M., Trachsel E., Neri D. The antibody-mediated targeted delivery of interleukin-15 and GM-CSF to the tumor neovasculature inhibits tumor growth and metastasis // Cancer Res. 2007. 67. (10). 4940–4948.
19. Kline M., Donovan K., Welik L. et al. Cytokine and chemokine profiles in multiple myeloma; significance of stromal interaction and correlation of IL-8 production with disease progression // Leuk. Res. 2007. 31. (5). 591–598.
20. Kuku I., Bayraktar M.R., Kaya E. et al. Serum proinflammatory mediators at different periods of therapy in patients with multiple myeloma // Mediat. Inflamm. 2005. 3. 171–174.
21. Penafuerte C., Bautista-Lopez N., Bouldassei M.R. et al. The human ortholog of granulocyte macrophage colony-stimulating factor and interleukin-2 fusion protein induces potent *ex vivo* natural killer cell activation and maturation // Cancer Res. 2010. 70. (14). 6106.

STUDY OF CYTOKINE BALANCE IN LYMPHOPROLIFERATIVE DISORDERS

**Natalya Petrovna DOMNIKOVA^{1,2}, Tatyana Yur'evna DOLGIKH¹,
Yuliya Aleksandrovna D'YACHKOVA², Elena Evgen'evna PETRUSENKO¹,
Tatyana Borisovna KUZNETSOVA², Evgeniy Vladimirovich SHOLENBERG¹,
Oleg Vadimovich RESHETNIKOV³, Svetlana Leonidovna RYZHIKOVA⁴**

¹ *Institute of Regional Pathology and Pathomorphology SB RAMS
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2*

² *State Novosibirsk Regional Clinical Hospital
630087, Novosibirsk, Nemirovich-Danchenko str., 130*

³ *Institute of Internal Medicine SB RAMS
630089, Novosibirsk, Boris Bogatkov str., 175/1*

⁴ *Joint Stock Company «VECTOR-BEST»
630117, VECTOR-BEST PO BOX 492, Novosibirsk-117*

Spontaneous and mitogen-stimulated production of pro- and anti-inflammatory cytokines in 76 patients with chronic lymphocytic leukemia, non-Hodgkin's lymphoma of small lymphocytes with tumor bone marrow, multiple myeloma and diffuse large B-cell lymphoma was investigated over the course of chemotherapy. The onset or progression is accompanied by increased level of several inflammatory cytokines, except for IL-2, which production is reduced. The level of pro- and anti-inflammatory cytokines is mainly reduced at remission. Production of colony-stimulating factors increased in onset or progression, as well as in remission of lymphoproliferative diseases.

Key words: cytokines, chronic lymphocytic leukemia, non-Hodgkin's lymphoma of small lymphocytes with tumor bone marrow, multiple myeloma, diffuse large B-cell lymphoma.

Domnikova N.P. – doctor of medical sciences, professor, head of laboratory of molecular cellular and immunomorphological basis of oncohematology, head of hematology department with aseptic wards, e-mail: n_domnikova@mail.ru

Dolgikh T.Yu. – senior researcher, e-mail: tatyana.yurevna.dolgikh@yandex.ru

D'yachkova Yu.A. – physician of hematology department with aseptic wards, e-mail: dyachkova_yuliya@mail.ru

Petrusenko E.E. – senior researcher, e-mail: elena_petrusenko@list.ru

Kuznetsova T.B. – physician of hematology department with aseptic wards, e-mail: tata1979k@mail.ru

Sholenberg E.V. – researcher, e-mail: teyton1350@rambler.ru

Reshetnikov O.V. – leading researcher, e-mail: reshetnikov_ov@mail.ru

Ryzhikova S.L. – researcher, e-mail: sv_ryzhikova@mail.ru