

Н.С. Асфандиярова, А.С. Скопин, А.В. Бороздин, А.И. Гиривенко

РЕАКЦИЯ СИСТЕМЫ ИММУНИТЕТА НА ИНСУЛИНОПОДОБНЫЙ ФАКТОР РОСТА-1 ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ЖЕНЩИН В ПЕРИОД МЕНОПАУЗЫ

ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Минздрава России

Принимая во внимание сведения о роли инсулиноподобного фактора роста-1 (ИФР-1) при раке молочной железы (РМЖ), основной целью настоящего исследования явилось изучение реакций клеточного иммунитета на ИФР-1. Обследовано 58 больных РМЖ (61 ± 1 год, ИМТ $31,2 \pm 0,9$ кг/м², все в менопаузе) и 10 с доброкачественными образованиями молочной железы (56 ± 2 года, ИМТ $30,8 \pm 0,7$ кг/м², все в периоде менопаузы), а также 17 больных, страдающих раком различной локализации. Сенсibilизацию лимфоцитов к ИФР-1 определяли в реакции бласттрансформации лимфоцитов периферической крови. У большинства больных РМЖ (47/58) выявлена сенсibilизация лимфоцитов периферической крови к ИФР-1. При этом, у части пациентов (29/47) эта реакция супрессирована и выявляется только после подавления циклооксигеназы и/или блокирования H₂-рецепторов гистамина, соответствующими фармпрепаратами *in vitro*.

Ключевые слова: рак молочной железы, ИФР-1, простагландин-синтезирующие клетки, клетки с рецепторами к гистамину

В течение десятилетий внимание исследователей привлекают инсулиноподобные белки: инсулин, инсулиноподобные факторы роста, релаксины, релаксино-подобный фактор и некоторые другие. При этом, немалый интерес вызывают инсулиноподобные факторы роста (ИФР). Свое название они получили в связи с тем, что обработка сыворотки крови антителами к инсулину не приводила к полной элиминации инсулиновой активности. Это, с одной стороны, позволило установить, а затем и определить новые полипептиды, обладающие инсулиновой активностью, а с другой стороны, четко установить антигенное различие между ИФР и инсулином. Другое известное название ИФР – соматомедины, так как они являются гормональными посредниками действия соматотропного гормона на периферические ткани и образуются в ткани печени именно под воздействием гормона роста, хотя следует отметить, что ИФР выявляются и

во многих других органах и тканях. Описано два ИФР: ИФР-1 и ИФР-2, причем оба они привлекают внимание специалистов в области онкологии.

Биологические эффекты ИФР, в связи с многообразием клеток, экспрессирующих ИФР-рецепторы, весьма разнообразны: ИФР-1 оказывает нейротрофическое действие, способствует гипертрофии скелетных мышц в результате повышения синтеза белка, оказывает хондропротекторный эффект. Этот ростовой фактор играет важную роль в регуляции нормальных физиологических процессов, способствует клеточной пролиферации, ингибирует апоптоз, что, очевидно, может иметь отношение к регуляторной роли ИФР-1 в онкогенезе [2,3].

Немалый интерес вызывает ассоциация ИФР-1 с раком молочной железы (РМЖ) [2-4,6-8]. Тем не менее, большинство проведенных исследований не позволяют судить о реакции системы иммунитета на данный полипептид (в том числе, в период менопаузы). В связи с этим нами осуществлено изучение реакций клеточного иммунитета на ИФР-1 у данной группы больных.

Материал и методы

Для решения поставленной задачи методом случайной выборки в исследование было включено 58 больных РМЖ (все женщины в менопаузальном периоде, в возрасте от 51 до 80 лет, ср. возраст 61 ± 1 год, ИМТ $31,2 \pm 0,9$ кг/м²) и 10 больных доброкачественными опухолями молочной железы (ДО) (все женщины в менопаузе в возрасте от 46 до 72 лет, ср. возраст 56 ± 2 года, ИМТ $30,8 \pm 0,7$ кг/м²). Кроме того, обследовано 17 больных, страдающих раком различных локализаций (желудка, гортани, поджелудочной железы; из них 8 женщин в возрасте 64 ± 2 года, ИМТ $27,3 \pm 1,2$ кг/м²). Морфологическое подтверждение диагноза имелось у всех больных злокачественными и доброкачественными опухолями.

Ответ системы иммунитета на ИФР-1 исследовали с помощью реакции бласттрансформации лимфоцитов периферической крови (морфологический метод оценки реакции). Определяли пролиферативную активность лимфоцитов при добавлении препарата ИФР-1 и функциональную активность специфических (контролирующих ответ на ИФР-1) супрессорных клеток: простагландинсинтезирующих клеток (ПГСК) и клеток с рецепторами к гистамину (КРГ) [1,5]. В качестве упомянутого препарата (антигена) использовали Диналан (Dynalan R3 IGF-1, Dynamic

Development Laboratories Co., Ltd.) в количестве 0,1 мкг на культуру лимфоцитов. Контролем служила культура, к которой добавляли физиологический раствор. Значение индекса стимуляции более 1,5 свидетельствовало о наличии сенсibilизации лимфоцитов к антигену. При добавлении к клеткам лишь ИФР-1 реакция оценивалась как прямая, явная. В тех случаях, когда сенсibilизацию лимфоцитов к ИФР-1 выявляли после ингибирования функциональной активности ПГСК или КРГ, обладающих супрессорной активностью, реакция оценивалась как непрямая, косвенная. Для выявления такой реакции в культуру клеток помимо ИФР-1 добавляли ингибитор циклооксигеназы индометацин (SOPHARMA AD, Болгария, 0,0025 мг на культуру клеток) или блокатор H₂-гистаминовых рецепторов циметидин (Гедеон Рихтер, Венгрия, 0,02 мг на культуру клеток). Чтобы исключить стимулирующее влияние индометацина и циметидина, для сравнения их также вносили в культуру клеток в тех же дозах и объеме, но без ИФР-1. Клетки культивировали при температуре 37° в течение 96 час.

Исследование было двойным, слепым, рандомизированным. Полученные результаты обработаны с помощью методов вариационной статистики с использованием критериев Стьюдента и χ^2 . Результаты исследования представлены в виде их средних значений \pm среднеквадратичное отклонение от средней. Различие между группами считали статистически значимым при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Полученные результаты представлены в табл. 1. Сенсibilизация лимфоцитов к ИФР-1 выявлена у подавляющего большинства больных раком молочной железы (47/58). При этом прямая реакция отмечена у трети пациентов; у остальных сенсibilизация лимфоцитов к ИФР-1 выявлялась после подавления супрессорной активности простагландинсинтезирующих клеток и/или клеток с рецепторами к гистамину (29/47). Различие оказалось статистически достоверным при сравнении с аналогичными результатами больных доброкачественными опухолями молочной железы и раком иной локализации (см. табл. 1).

Таблица 1.

Частота ответа лимфоцитов на инсулиноподобный фактор роста-1 при различных заболеваниях

Диагноз	Сенсibilизация лимфоцитов к ИФР-1	Сенсibilизация лимфоцитов к ИФР-1, супрессированная	
		Простагландин-синтезирующими клетками	клетками с рецепторами к гистамину
Рак молочной железы (n=58)	18/58	19/51	25/43
Доброкачественные опухоли молочной железы (n=10)	0/10*	0/10*	0/10**
Рак иной локализации (n=17)	1/17*	2/17*	5/17*

В числителе количество больные, лимфоциты которых ответили на ИФР-1; в знаменателе – общее количество обследованных

* $p < 0,05$ при сравнении с группой РМЖ

Следует отметить, что у пациентов с высокой активностью простагландин-синтезирующих клеток и клеток с рецепторами к гистамину, подавляющих реакцию лимфоцитов на ИФР-1, размеры опухоли были меньше и метастазирование по классификации TNM встречалось реже, однако, различия не достигали статистически значимых величин (данные не представлены).

По данным ряда исследователей, у женщин в период менопаузы установлена ассоциация ИФР-1 и РМЖ; при этом, выявляемый у части больных высокий уровень ИФР-1 объясняется снижением синтеза в печени белка, связывающего ИФР-1, под влиянием гиперинсулинемии [4,6-8]. Возможно, имеется еще несколько причин, способствующих увеличению уровня ИФР-1. Как известно, рецепторы ИФР-1 могут связываться с инсулином, и в условиях гиперинсулинемии, при конкуренции за связь с рецепторами, инсулиноподобный фактор «проигрывает», что, не исключено, и приводит к увеличению в циркуляции свободного, биоактивного гормона. Еще одной потенциальной причиной, ведущей к увеличению уровня ИФР-1, может явиться развитие ИФР-1-резистентности как следствие блокирования клетками иммунной системы ИФР-рецепторов.

В настоящем исследовании, добавление к культуре лимфоцитов ингибиторов циклооксигеназы или блокаторов H₂-рецепторов гистамина приводило к восстановлению реакции лимфоцитов на ИФР-1 примерно у 2/3 больных РМЖ, что, возможно, свидетельствует о блокировании этих рецепторов на лимфоцитах *in vivo*. Причина появления аутоиммунной реакции на ИФР-1 и супрессия ее у части больных остаются неясными. В доступной литературе удалось обнаружить лишь одно сообщение, в котором отмечался пролиферативный эффект ИФР-1 на Т-лимфоциты [10].

Как отмечают, влияние ИФР-1 на систему иммунитета заключается в улучшении функциональной активности Т-, В-лимфоцитов и НК-клеток [9]. В связи с этим блокирование рецепторов для ИФР-1 на клетках иммунной системы может способствовать нарушениям в ее деятельности. Вместе с тем, блокирование рецепторов ИФР-1 на клетках злокачественных опухолей может способствовать уменьшению роста и распространения опухоли, что достаточно активно обсуждается в литературе. Еще одним следствием блокирования ИФР-1-рецепторов, не исключено, может быть увеличение его концентрации в циркуляции. В условиях гиперэкспрессии рецепторов ИФР-1 на поверхности опухолевых клеток, исход описанных процессов, таким образом, зависит от множества факторов.

Обращает на себя внимание ассоциация РМЖ с реакцией лимфоцитов на ИФР-1, супрессированной клетками с рецепторами для гистамина. Данная сенсibilизация оказалась неспецифичной для РМЖ, так как, хотя и несколько реже, но все же встречается при раке других локализаций (табл. 1). Возможно, этот тип реакции оказывает своего рода протективный эффект, однако, ввиду малочисленности группы больных данное предположение требует дальнейшего изучения.

Причина повышения сенсibilизации лимфоцитов к таким антигенам, как ИФР-1, остается неясной. Возможно имеет место наличие перекрестно-реагирующих антигенов, либо изменение антигенной природы ИФР-1 или его комплекса с белками.

В итоге, у большинства женщин с раком молочной железы, находящихся в периоде менопаузы, выявляется (по данным использованного метода) сенсibilизация лимфоцитов периферической крови к инсулиноподобному фактору роста-1 (47/58). У части пациентов (29/47) эта реакция супрессирована и выявляется только после подавления функциональной активности простагландин-синтезирующих клеток и/или клеток с рецепторами к гистамину препаратами *in vitro*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алехин Е.К., Лазарева Д.Н., Сибиряк С.В. Иммунотропные свойства лекарственных средств. Уфа, 1993.
2. Костылева О. И., Герштейн Е. С., Дигаева М. А. и др. Инсулиноподобные факторы роста, их рецепторы и связывающие белки как патогенетические факторы и потенциальные мишени терапии в онкологии // *Вопр. биол., мед., фарм. химии.* – 2009. – № 6. – С. 3-8.
3. Кушлинский Н.Е. Семинар по клинической маммологии. — М., Изд-во АБВ-Пресс. – 2006.
4. Allen N.E., Roddam A.W., Allen D.S. et al. A prospective study of serum insulin-like growth factor-1 (IGF-1), IGF-II, IGF-binding protein-3 and cancer risk // *Br J Cancer.* – 2005. – Vol. 92. – P. 1283-1287.
5. Goodwin J.S., Bankhurst A.D., Messner R.P. Suppression of human T-cell mitogenesis by prostaglandin // *J Clin Med.* – 1977. – Vol. 146. – P. 1719-1734.
6. Gunter M.J., Hoover D.R., Yu H. et al. Insulin, insulin-like growth factor-1 and risk of breast cancer in

postmenopausal women // *J Natl Cancer Inst.* – 2009. – Vol. 101. – P. 48-60.

7. Shernhammer E.S., Holly J.M., Pollack M.H., Hankinson S.E. Circulating levels of insulin-like growth factors, their binding proteins and breast cancer risk // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2005. – Vol. 14. – P. 699-704.
8. Smith G.D., Gunnell D., Holly J. Cancer and insulin-like growth factor-1. A potential mechanism linking environment with cancer risk // *BMJ.* – 2000. – Vol. 321. – P. 847.
9. Smith T.J. Insulin-like growth factor-1 regulation of immune function: a potential therapeutic target in autoimmune diseases? // *Pharm Reviews.* – 2010. – Vol. 62. – P. 199-236.
10. Tapson V.F., Boni-Schnetzler M., Pilch P.F., et al. Structural and functional characterization of the human T lymphocyte receptor for insulin-like growth factor I *in vitro* // *J Clin Invest.* – 1988. – Vol. 82. – P. 950-957.

*N.S. Asphandiyarova, A.S. Skopin, A.V. Borozdin,
A.I. Girivenko*

The reaction of the immune system to insulin-like growth factor-1 in postmenopausal women with breast cancer

I.P. Pavlov State Medical University, Ryazan

Taking into account the information about the role of insulin-like growth factor -1 (IGF-1) in breast cancer the main aim of the present study was to investigate the cellular immune response to IGF- 1. There were examined 58 patients with breast cancer (61 ± 1 years , BMI 31,2 ± 0,9 kg/m² , all postmenopausal) and 10 with benign tumors of the breast (56 ± 2 years , BMI 30,8 ± 0,7 kg/m² all menopausal) as well as 17 patients suffering from cancer of different sites. Sensibilization of lymphocytes to IGF-1 was measured in the reaction of blast transformation of peripheral blood lymphocytes. The majority of breast cancer patients (47/58) revealed the sensibilization of peripheral blood lymphocytes to IGF-1. Thus in a part of patients (29 /47) this reaction was suppressed and revealed after suppression of cyclooxygenase and/or blocking of the histamine H₂-receptors by corresponding pharmaceuticals drugs *in vitro*.

Key words: breast cancer, IGF-1, prostaglandin synthesizing cells, cells to histamine receptors

Поступила в редакцию 13.11.2013 г.