

Райгер Татьяна Владимировна

**ЦИТОКИНЫ ЛИМФЫ И СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРИ ХИМИЧЕСКИ
ИНДУЦИРОВАННОМ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

03.01.04 - Биохимия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2019

Работа выполнена в Научно-исследовательском институте клинической и экспериментальной лимфологии – филиал федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»

Научные руководители:

доктор медицинских наук,
профессор, академик РАН

Коненков Владимир Иосифович

доктор медицинских наук

Повещенко Александр Федорович

Официальные оппоненты:

Толстикова Татьяна Генриховна, доктор биологических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное учреждение науки Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук, заведующая лабораторией

Козлов Вадим Викторович, кандидат медицинских наук, государственное бюджетное учреждение здравоохранения Новосибирской области «Новосибирский областной клинический онкологический диспансер, заведующий отделением

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»

Защита диссертации состоится «__» _____ 2019 г. в __ часов на заседании диссертационного совета Д 001.048.04 на базе федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» по адресу: 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» и на сайте <http://ficftm.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета, к.б.н.

Русских Галина Сергеевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Рак молочной железы (РМЖ) занимает лидирующие позиции по уровню заболеваемости среди онкологических заболеваний у женщин (Мерабишвили, 2011; Allgood et al., 2017; Escarela et al., 2017; Skoog et al., 2017). Согласно данным Европейского отдела Всемирной организации здравоохранения, среди женщин частота заболеваемости РМЖ составила в среднем 66,5 случаев на 100 000, а смертность от РМЖ достигла 16 случаев на 100 000 женского населения. В то же время, среди женщин 28 стран, входящих в ЕС, РМЖ был выявлен с частотой 80,3 случая на 100 000 женщин (Altobelli et al., 2017).

Цитокины – регуляторы межклеточных взаимодействий на аутокринном и паракринном уровнях, которые вырабатываются не только клетками иммунной системы, но и клетками опухоли (Соснина и др., 2013; Esquivel-Velazquez et al., 2015). С одной стороны, продуцируемые опухолевыми клетками, цитокины способствуют активации ангиогенеза, уклонению опухолевых клеток от иммунного надзора, прогрессированию и метастазированию опухоли, с другой стороны, цитокины являются медиаторами противоопухолевого иммунитета. Концентрация и баланс уровней цитокинов и их антагонистов способствуют усилению или ингибированию роста рака молочной железы (Nicolini et al., 2006;).

Существенная роль в инициации опухолевого роста, прогрессировании и метастазировании опухолевых клеток отводится микроокружению опухоли (Espinoza, et al., 2016). В частности, важная роль в этих процессах принадлежит опухоли-ассоциированным макрофагам, которые создают провоспалительный фон вокруг очага опухоли и, тем самым, благоприятствуют дальнейшему росту опухоли и ускользанию от клеток иммунной системы (Mohamed et al., 2014).

Сывороточные и тканевые интерлейкины могут быть предикторами исхода опухолевого процесса (Holen et al., 2015; Kitamura et al., 2015). Для изучения механизмов возникновения, прогрессирования, метастазирования злокачественных опухолей, в том числе РМЖ, используют различные экспериментальные подходы. Например, такие как, трансплантация животным перевиваемых опухолевых клеточных линий, трансфекция генов и получение трансгенных животных, которые имеют большое значение для изучения злокачественной трансформации клеток, вирусная или химическая индукция возникновения и прогрессирования злокачественных опухолей различной локализации. Экспериментальный метод позволяет оценить действие цитокинов в механизмах патогенеза и прогрессирования РМЖ в процессе проведения различных видов лечения. Подавляющее большинство клинических и экспериментальных методов исследований уровней интерлейкинов, ростовых факторов и хемокинов при опухолях, в том числе и при РМЖ, касаются уровней данных биологически активных молекул в сыворотке крови, крайне редко, в тканях опухоли. Особую актуальность приобретает изучение цитокинового профиля лимфы, поскольку распространение опухолевого процесса и метастазирование происходит преимущественно лимфогенно, и цитокиновый профиль лимфы остается практически неизученным.

Степень разработанности темы исследования. При опухолевом росте в сыворотке крови отмечается повышение содержания провоспалительных цитокинов и хемокинов. Таким образом, концентрация цитокинов в сыворотке крови и лимфе может иметь прогностическое значение, что обуславливает важность их изучения при онкогенезе. Цитокины оказывают влияние на эффективность противоопухолевой терапии, а также на

степень проявления побочных эффектов. Изучение концентрации цитокинов в сыворотке крови при РМЖ имеет значение для прогнозирования развития рецидивов, оценки риска метастазирования, выживаемости и смертности.

Цитокины играют важную роль в патогенезе социально значимых патологий, к которым относится рак. Если работы по изучению цитокинового профиля крови при онкологических заболеваниях существуют, то цитокиновый профиль лимфы остается практически неизученным.

Несмотря на очевидную взаимосвязь цитокинов с патогенезом роста и метастазирования опухолей, комплексные исследования разных функциональных групп цитокинов, сравнительная оценка цитокинов в сыворотке крови и лимфе при применении различных методов лечения до сих пор не проводилась и требует изучения.

Цель исследования. Изучить уровни цитокинов в сыворотке крови и лимфе грудного протока в норме и при химически индуцированном раке молочной железы у крыс-самок Wistar и в процессе проведения оперативного лечения, полихимиотерапии и лекарственной терапии препарата «Панаген».

Задачи исследования

1. Изучить уровни цитокинов лимфы и сыворотки крови крыс-самок Wistar при химически индуцированном раке молочной железы (РМЖ);
2. Провести сравнительное исследование уровней цитокинов лимфы и сыворотки крови крыс-самок Wistar после оперативного удаления химически индуцированного РМЖ;
3. Сравнить уровни цитокинов лимфы и сыворотки крови крыс-самок Wistar с химически индуцированным РМЖ после проведения полихимиотерапии;
4. Сравнить уровни цитокинов лимфы и сыворотки крови крыс-самок Wistar с химически индуцированным РМЖ после проведения полихимиотерапии в сочетании с курсом терапии препарата двуцепочечной ДНК человека.

Научная новизна. Впервые проведено одномоментное комплексное исследование уровней 24 цитокинов в лимфе и в сыворотке крови в процессе онкогенеза.

Впервые в рандомизированном контролируемом проспективном исследовании одномоментно изучены уровни цитокинов в сыворотке крови и лимфе грудного протока, и исследовано влияние способов лечения на уровни цитокинов при химически индуцированном РМЖ.

Впервые показано, что уровни IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-12, IL-13, IL-17A, IFN- γ , MIP-1 α , MIP-3 α , RANTES, TNF- α , MCP-1 в сыворотке крови и лимфе грудного протока повышены при РМЖ, а уровень IL-10 снижен.

Впервые показано, что после оперативного вмешательства уровни IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-12, IL-13, IL-18, TNF- α , MIP-1 α , MIP-3 α и RANTES в сыворотке крови и лимфе грудного протока снижены.

Показано, что химиотерапия ведет к снижению уровней IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-7, IL-12, MIP-1 α , MIP-3 α , RANTES в сыворотке крови и лимфе грудного протока.

Впервые установлено, что экзогенная ДНК (препарат «Панаген») при стандартной схеме лечения экспериментального рака молочной железы повышает в сыворотке крови уровни IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-10, IL-12, IL-17, IL-18, G-CSF, GM-CSF, GRO/KC, MIP-1 α и MIP-3 α , а уровни IFN- γ , IL-5, IL-6, IL-7, IL-10, IL-13, IL-17, IL-18, GRO/KC и MIP-3 α - в лимфе грудного протока.

Теоретическая значимость и практическая ценность работы. Результаты,

полученные в ходе выполнения диссертационной работы, имеют теоретическую и практическую значимость. Так, в ходе исследования было показано, что уровни цитокинов в сыворотке крови и лимфе грудного протока можно использовать как маркер наличия опухолевого процесса в организме, а изменение уровней цитокинов после различных способов лечения могут служить прогностическим критерием эффективности проведенного лечения.

Полученные результаты имеют значение и для фундаментальной науки. Исследование уровней цитокинов в сыворотке крови и лимфе грудного протока у опухоленосителей вносят существенный вклад в изучение механизмов, лежащих в основе опухолевой трансформации клеток, прогрессии и метастазирования, а также послужат разработке новых методов диагностики, в частности, рака молочной железы. Результаты исследования могут служить основой для разработки новых лабораторных методов контроля эффективности оперативного и консервативного методов лечения РМЖ. Результаты диссертационной работы Райтер Т.В. «Цитокины лимфы и сыворотки крови при химически индуцированном раке молочной железы», внедрены в практику научно-исследовательской работы лаборатории ультраструктурных исследований НИИКЭЛ- филиал ИЦиГ СО РАН (акт внедрения от 07.10.2019 г.)

Методология и методы исследования. Диссертационная работа носит экспериментальный характер. Объектом исследования были крысы-самки Wistar. С целью выполнения поставленных задач проведены индукция РМЖ, терапия, клеточно-биологические исследования (световая микроскопия) на полученных срезах ткани опухоли, лимфатических узлах. А также было определено количество цитокинов в биологических образцах (сыворотке крови и лимфе). Концентрации 24 цитокинов в сыворотке крови и лимфе оценивали методом проточной флюориметрии на 2-лучевом лазерном автоматизированном анализаторе Bio-Plex Assay System (Bio-Rad, США) с использованием коммерческой тест-системы (определяемый динамический диапазон 2-32000 пкг/мл) в соответствии с инструкцией фирмы производителя Bio-Plex Pro Rat Cytokine 24-Plex Assay (Bio-Rad, США).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Уровни цитокинов IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-12, IL-13, IL-17A, MIP-1 α , MIP-3 α , RANTES, TNF- α , MCP-1 в сыворотке крови и лимфе грудного протока повышены при химически индуцированной опухоли молочной железы.

2. Уровни цитокинов в сыворотке крови и лимфе грудного протока могут служить прогностическим критерием эффективности противоопухолевой терапии, наличия метастазов в лимфатических узлах.

Степень достоверности и апробация результатов. Полученные результаты имеют высокую степень достоверности, которая подтверждается достаточным объемом экспериментального материала, использованием современных методических приемов и высокоинформативных методов исследования клеточной биологии, гистологии, патофизиологии, высокотехнологичного оборудования и адекватных критериев для статистической обработки полученных результатов.

Материалы диссертации обсуждены на Российских и международных конференциях.

Личный вклад автора. Автором проанализированы современные данные отечественной и зарубежной литературы по теме диссертации, принято непосредственное участие в планировании и проведении эксперимента - создании экспериментальной модели химически индуцированного рака молочной железы и проведения различных способов

лечения опытных групп. Осуществлен забор образцов сыворотки крови и лимфы для исследования. Самостоятельно проведен сравнительный анализ и статистическая обработка полученных результатов.

Объем и структура диссертации. Диссертация написана в традиционном стиле и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения и выводов. Диссертация изложена на 103 страницах машинописного текста, включающего 3 таблицы, 19 рисунков. Список литературы состоит из 271 источника, российских 15, зарубежных - 256.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы. В эксперименте использовались самки крыс породы Wistar в возрасте 12 недель массой 250-300 г. Всего в эксперименте было использовано 120 крыс, они были разбиты 6 групп по 20 крыс в каждой. Животные находились в виварии СО РАН на стандартной диете. Эксперимент был проведен с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, а также в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Исследование одобрено этическим комитетом ФГБНУ НИИКЭЛ.

В экспериментальных исследованиях крысы были разделены на шесть групп. В первой группе находились интактные крысы. Крысам из других пяти групп проводили индукцию РМЖ. Во вторую группу попали крысы с РМЖ без какой-либо терапии. В третьей группе находились крысы с РМЖ, которым была проведена полихимиотерапия (ПХТ). Крысам в четвертой группе после индукции РМЖ было выполнено оперативное лечение. Крысам в пятой группе после индукции РМЖ было проведено оперативное лечение и полихимиотерапия (ПХТ). В шестую группу попали крысы после оперативного удаления РМЖ в сочетании с ПХТ и введением препарата «Панаген» (фрагментированная ДНК).

Индукция РМЖ проводилась введением инъекционно N-метил-N-нитрозомочевины в область молочной железы крысам пятикратно (1 инъекция в неделю) (Sigma-Aldrich, США), в результате чего через 6 месяцев произошло формирование РМЖ (морфологический тип – аденокарцинома) (Волкова, 2014; Джигоев, 1984).

Оперативное удаление РМЖ (в четвертой, пятой и шестой группах крыс) проводили через 6 месяцев от момента индукции.

Для ПХТ (в третьей, пятой и шестой группах крыс) использовали схему «СМФ» (циклофосфан - в дозе 100 мг/м² с 1 по 14 день; метотрексат - в дозе 40 мг/м² в 1 и 8 дни; 5-фторурацил - в дозе 600 мг/м² в 1 и 8) (Sigma-Aldrich, США).

Крысам в шестой группе вводили препарат «Панаген», который представляет собой фрагментированную ДНК, в дозе (5мг/кг) внутривнутрибрюшинно, один раз в день в течение 14 дней через 3 часа после введения циклофосфана. В эксперименте была использована субстанция препарата «Панаген» с содержанием фрагментированной ДНК 1,7 мг/мл (ЛСР № 004429/08 от 09.06.08), выделенной из плаценты человека. Крыс из эксперимента выводили через 6 месяцев под наркозом (40 мг/кг нембутана внутривнутрибрюшинно; Sigma-Aldrich, США). Лимфу у животных забирали из грудного лимфатического протока (Кузнецов, 1993).

Концентрации цитокинов в сыворотке крови и лимфе экспериментальных животных оценивали методом проточной флюориметрии на 2-лучевом лазерном автоматизированном анализаторе (Bio-Plex Assay System (Bio-Rad, США)) с использованием коммерческой тест-системы (определяемый динамический диапазон 2-32000 пкг/мл) в соответствии с

инструкцией фирмы производителя Bio-Plex Pro Rat Cytokine 24-Plex Assay (Bio-Rad, США).

Концентрации цитокинов в сыворотке крови и лимфатической жидкости представлены средним значением и среднеквадратическим отклонением ($M \pm \sigma$); медианой (Me), нижним и верхним квартилями ($Q1$; $Q3$). При статистической обработке значения концентраций цитокинов, которые выходили за нижнюю границу чувствительности метода (< 2 пкг/мл), были приняты за 1 пкг/мл. Полученные результаты были подвергнуты статистической обработке с использованием программы Statistica 7.0 (StatSoft, США).

Достоверность различий между группами была рассчитана по U-критерию Манна-Уитни. Различия между группами считали достоверными при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Цитокины сыворотки крови как маркеры онкогенеза и эффективности терапии при экспериментальной опухоли молочной железы крыс Wistar. В результате сравнительного исследования концентрации цитокинов в сыворотке крови крыс-опухоленосителей РМЖ и интактных животных (пкг/мл) отмечено значимое увеличение уровней цитокинов IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-12, IL-13, MIP-1 α , MIP-3 α , RANTES, TNF- α , MCP-1 и снижение уровней GRO/КC и IL-10 в группе с РМЖ (рис.1)

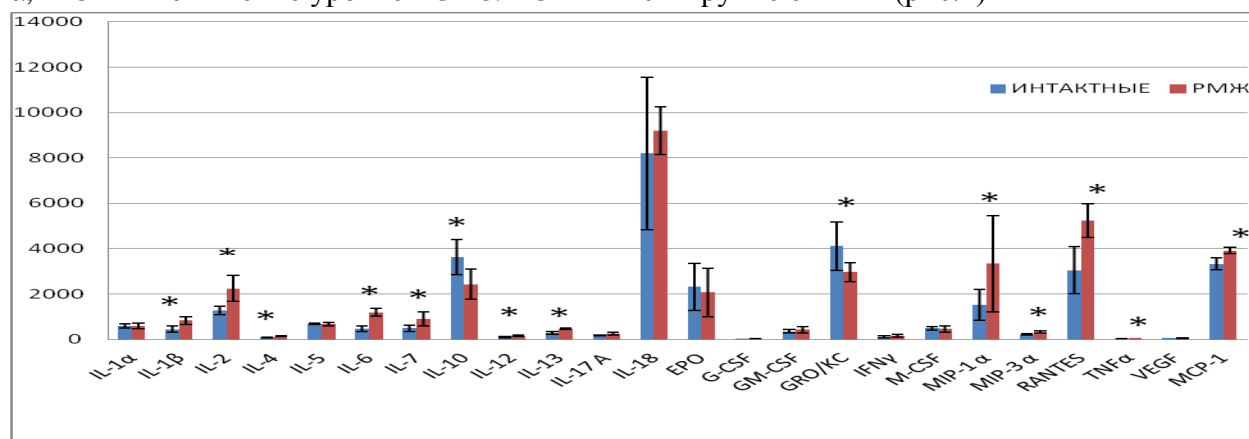


Рис. 1. Концентрация цитокинов в сыворотке крови крыс-опухоленосителей РМЖ по сравнению с интактными (пкг/мл)

Причем уровень провоспалительных цитокинов в сыворотке крови увеличился у крыс с индуцированной опухолью для IL-1 β в 1,8 раза ($p=0,002$), для IL-6 в 2,5 раза ($p=0,0007$) и для TNF- α в 2,6 раза ($p=0,001$). Индукция РМЖ привела к достоверному снижению концентрации GRO/КC в 1,4 раза ($p=0,02$) по сравнению с интактной группой. Кроме того, в группе крыс с индуцированным РМЖ отмечено повышение концентрации таких хемокинов, как MIP-1 α , MIP-3 α , RANTES, MCP-1 в 2,1 раза ($p=0,04$), в 1,5 раза ($p=0,002$), в 1,7 раза ($p=0,003$) и в 1,2 раза ($p=0,01$) соответственно по сравнению с интактной группой. Также индукция РМЖ привела к снижению продукции противовоспалительного цитокина IL-10 в 1,5 раза ($p=0,02$) по сравнению с интактной группой крыс-самок, что, вероятно, способствует ослаблению противоопухолевой защиты.

Указанные цитокины, в том числе провоспалительные и хемокины, продуцируются преимущественно опухолевой тканью и лимфоидными клетками, которые инфильтрируют эту опухолевую ткань. Некоторые из этих белков действуют, как паракринные или аутокринные факторы роста РМЖ. По мнению многих исследователей провоспалительные цитокины внутри опухоли и в ее микроокружении связаны с прогрессированием РМЖ (Соснина А.В. и др., 2013; Стахеева М.Н. и др., 2010; Чердынцева Н.В. и др., 2005). Высокая

концентрация этих биологически активных факторов у животных с РМЖ позволяет отнести их к маркерам опухолевого роста.

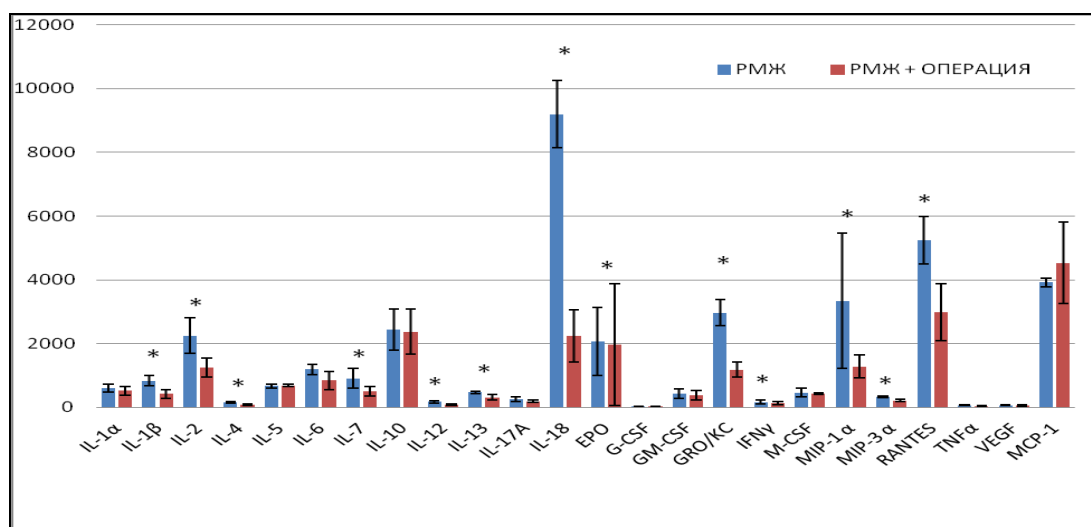


Рис. 2. Концентрация цитокинов в сыворотке крови крыс - опухоленосителей РМЖ по сравнению с животными после удаления РМЖ (пг/мл)

На рисунке 2 представлена концентрация цитокинов в сыворотке крови крыс-опухоленосителей РМЖ по сравнению с животными после удаления РМЖ (пг/мл), и видно, что удаление опухоли привело к значимому снижению в сыворотке крови уровней провоспалительных цитокинов (IL-1β, IL-2, IL-12, IL-18, TNF-α), хемокинов (MIP-1α, MIP-3α, RANTES, GRO/KC), противовоспалительных цитокинов IL-4, IL-13 и ростовых факторов IL-7 и EPO по сравнению с РМЖ.

В группе крыс с РМЖ, которым была проведена ПХТ, обнаружено достоверное снижение в сыворотке крови концентрации цитокинов IL-1β, IL-4, IL-6, IL-7, IL-12, IL-18, MIP-1α, MIP-3α, RANTES по сравнению с группой крыс с РМЖ без лечения (рис.3).

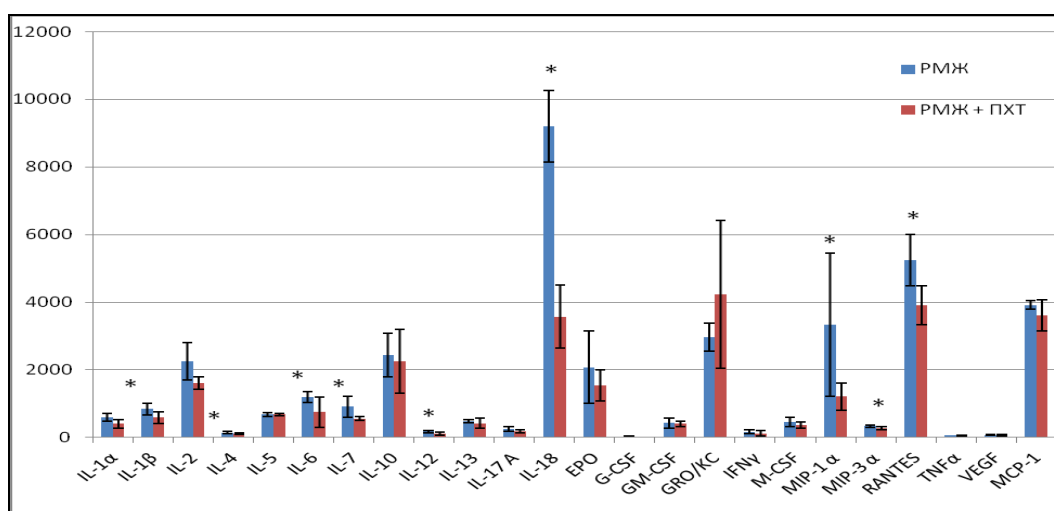


Рис. 3. Концентрация цитокинов в сыворотке крови крыс с РМЖ по сравнению с животными - опухоленосителями после проведения химиотерапии

При проведении ПХТ, в отличие от оперативного лечения РМЖ, не обнаружено

достоверного снижения концентрации TNF- α . Концентрация IL-10 не изменяется достоверно ни при использовании ПХТ, ни при оперативном лечении, оставаясь на одном уровне с группой крыс с РМЖ. Возможно, эти результаты отражают ингибирующий эффект цитостатиков на опухолевые клетки, а также на функциональную активность лимфоидных клеток. Ингибирующий эффект на исследуемые ростовые факторы и хемокины, такие как, EPO, G-CSF, GM-CSF, M-CSF, VEGF, GRO/KC, нельзя считать достоверным.

Соответственно, в группе крыс после оперативного удаления РМЖ и ПХТ концентрация цитокинов IL-2, IL-5, IL-7, IL-13, IL-17A, G-CSF, MCP-1 в сыворотке крови была достоверно ниже по сравнению с группой оперированных животных, но, в то же время, уровень продукции хемокинов GRO/KC и RANTES был достоверно выше. Очевидно, что GRO/KC и RANTES определяют не только метастазирование, но и хемотаксис иммунокомпетентных клеток. В данном случае отсутствуют изменения продукции маркеров метастазирования, таких как IL-1 β , IL-6, VEGF, MIP-1 α , MIP-3 α (рис. 4)

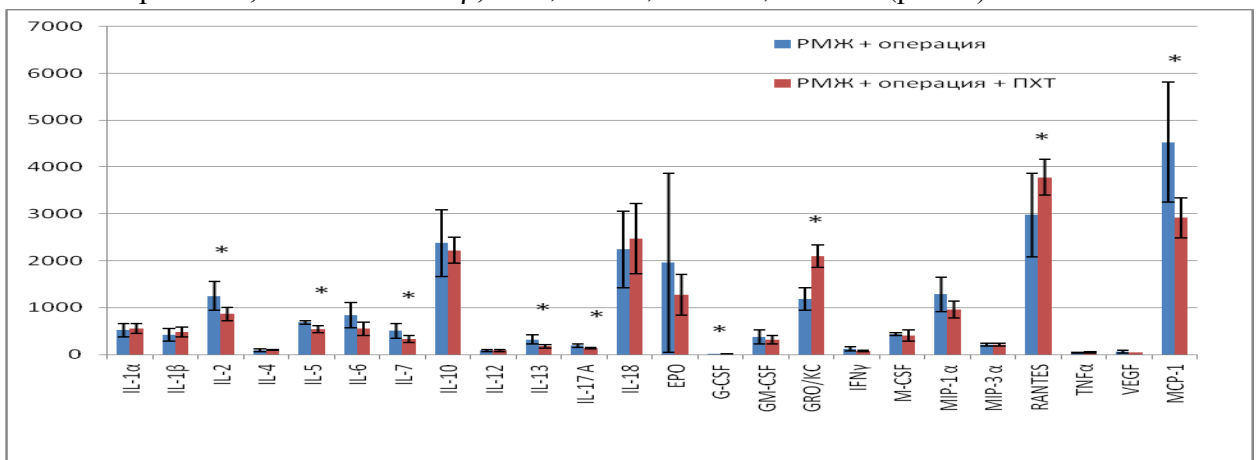


Рис. 4. Концентрация цитокинов в сыворотке крови крыс после удаления РМЖ по сравнению с животными после операции и проведения химиотерапии (пг/мл)

Согласно рис.5, концентрация цитокинов в сыворотке крови прооперированных животных после проведения ПХТ и введения препарата «Панаген» достоверно увеличилась по сравнению с группой крыс после оперативного удаления РМЖ и ПХТ для большинства исследованных цитокинов: IL-2, IL-4, IL-5, IL6, IL-7, IL-10, IL-12, IL-17A, IL-18, G-CSF, GM-CSF, GRO/KC, IFN γ , MIP-1 α , MIP-3 α . Стимулирующее влияние препарата «Панаген» на лимфоидные клетки выражается в увеличении продукции целого ряда цитокинов. В группе крыс после оперативного удаления РМЖ, ПХТ и введения «Панагена» по сравнению с интактными крысами достоверно увеличилась концентрация цитокинов IL-2, IL-4, IL-6, IL-17A, GM-CSF. Это совпадает с представлениями о том, что цитостатики в сочетании с препаратом ДНК, возможно, обеспечивают противоопухолевый эффект и стимулируют лимфоидные клетки (Alyamkina et al., 2010).

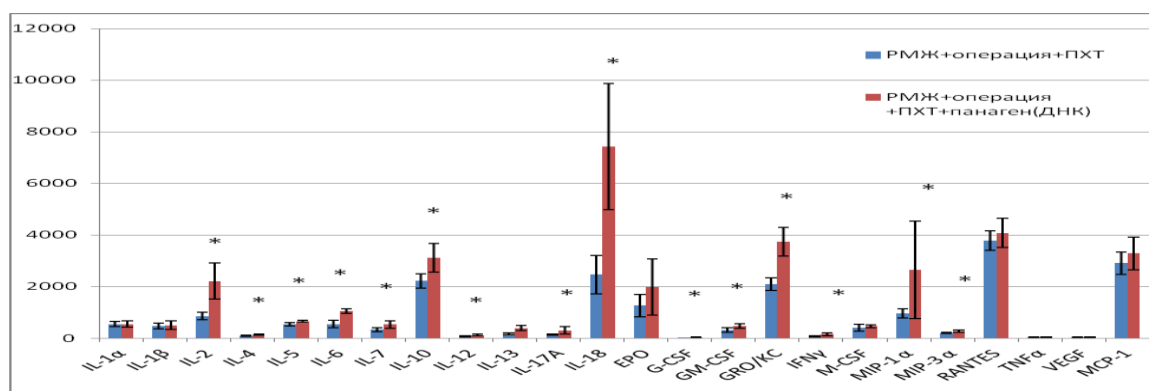


Рис. 5. Концентрация цитокинов в сыворотке крови крыс после удаления РМЖ в сочетании с полихимиотерапией по сравнению с животными после операции, проведения полихимиотерапии и введения препарата фрагментированной дцДНК («Панаген») (пг/мл)

Сравнительное исследование показателей концентрации цитокинов в сыворотке крови у группы крыс после удаления опухоли с показателями интактной группы показало, что концентрация IL-10, IL-18, EPO, GRO/KC, RANTES была достоверно снижена в группе прооперированных животных (рис.6).

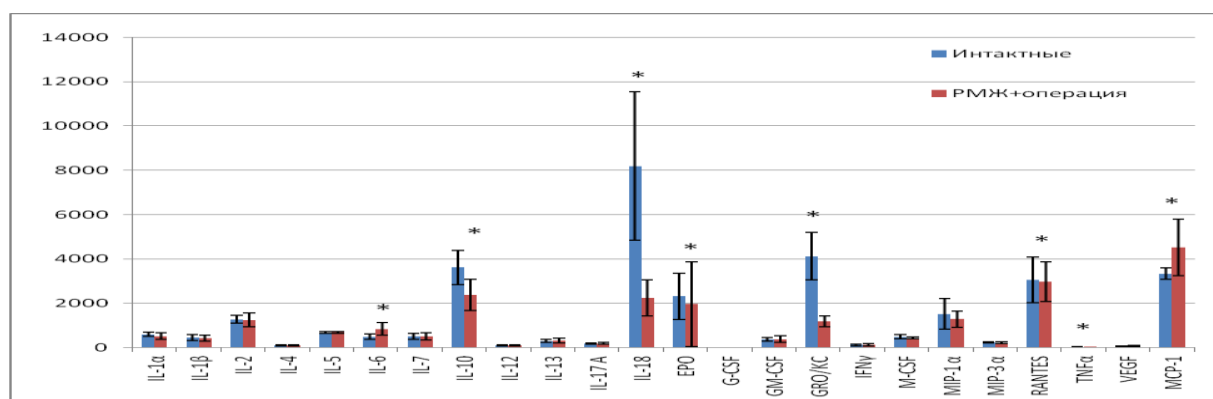


Рис.6. Концентрация цитокинов в сыворотке крови крыс после удаления РМЖ по сравнению с интактными животными (пг/мл)

Основным источником IL-10 в опухолевом микроокружении являются макрофаги, которые увеличивают экспрессию IL-10 в ответ на сигналы от гибнущих раковых клеток. По данным Сосниной и др. (Соснина и др., 2013), удаление первичного опухолевого очага, по-видимому, ослабляет сигнальные пути и приводит к незначительному снижению IL-10.

В группе прооперированных животных концентрация цитокинов IL-6, TNF-α и хемокина MCP-1 была достоверно выше по сравнению с интактной группой, что позволяет считать их не только провоспалительными маркерами, но и маркерами метастазирования.

Действительно доказано, что удаление первичной опухоли без регионарных лимфоузлов и без проведения ПХТ может привести к ускорению метастазирования, что сопряжено со многими факторами, в том числе со стимуляцией ангиогенеза (Соснина и др., 2013).

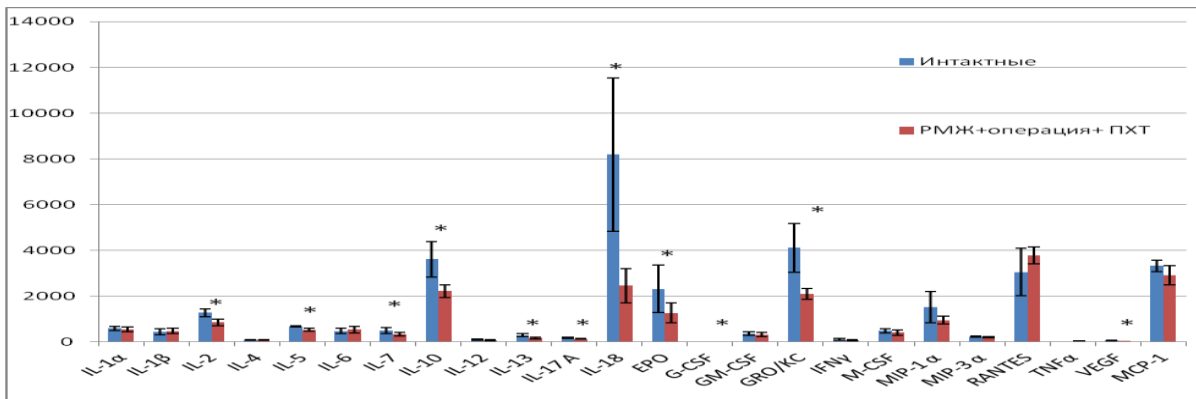


Рис. 7. Концентрация цитокинов в сыворотке крови крыс после удаления РМЖ и проведения полихимиотерапии по сравнению с интактными (пг/мл)

На рис. 7 видно, что концентрация цитокинов в сыворотке крови IL-2, IL-5, IL-7, IL-10, IL-13, IL-17A, IL-18, EPO, G-CSF, GRO/KC, VEGF значительно выше в группе интактных животных по сравнению с группой животных после оперативного удаления РМЖ и полихимиотерапии.

Концентрация IL-4, IL-6, IL-17A, TNF-α в сыворотке крови животных после удаления РМЖ в сочетании с полихимиотерапией и введением препарата «Панаген» была значительно выше по сравнению с интактными животными. В то же время концентрация VEGF достоверно ниже по сравнению с интактными (рис.8).

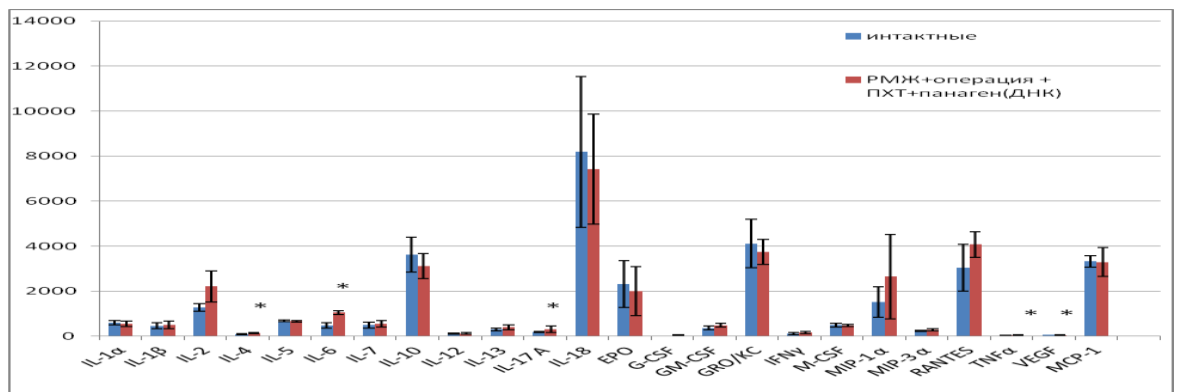


Рис. 8. Концентрация цитокинов в сыворотке крови крыс после хирургического удаления РМЖ в сочетании с полихимиотерапией и введением «Панагена» по сравнению с интактными животными (пг/мл)

На рисунке 9 видно, что в группе крыс с РМЖ после удаления опухоли по сравнению с группой крыс с РМЖ после проведения полихимиотерапии достоверно увеличилась концентрация только одного цитокина - GRO/KC.

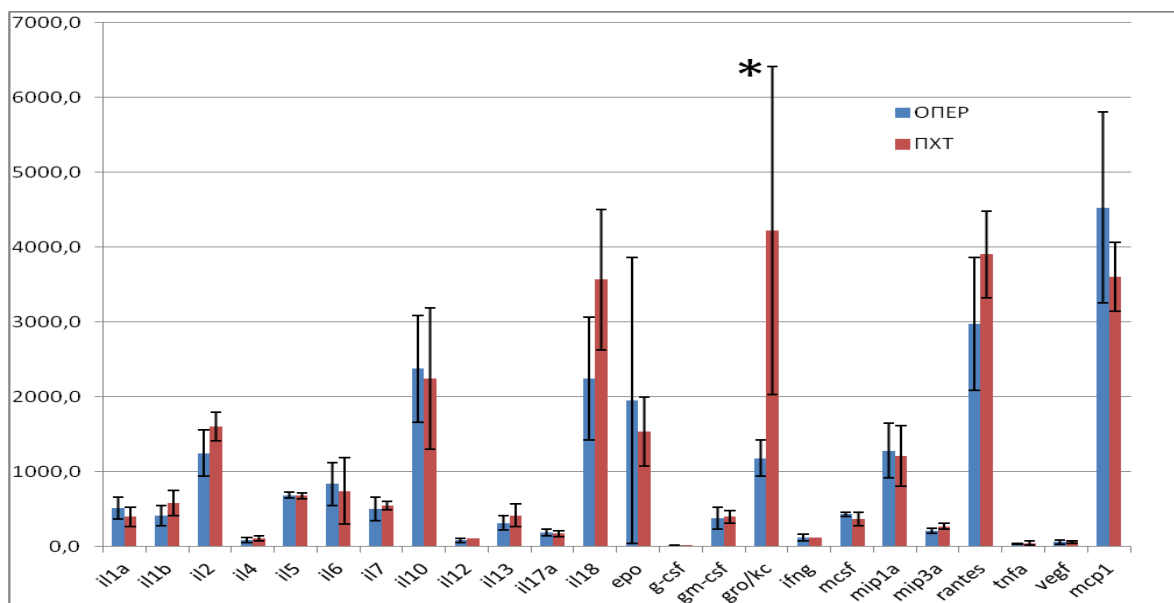


Рис.9. Концентрация цитокинов в сыворотке крови крыс после удаления РМЖ по сравнению с группой крыс с РМЖ после проведения полихимиотерапии (пг/мл)

Таким образом, при сравнении цитокиновых профилей сывороток крови крыс Wistar обнаружено, что тип проводимого лечения РМЖ влияет на количественное содержание цитокинов в сыворотке крови. По нашему мнению, РМЖ может стимулировать синтез как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов, основными источниками, которых являются клетки опухоли, клетки опухолевого микроокружения, а также другие иммунокомпетентные клетки. Спектр продуцируемых цитокинов не является неизменным, он может различаться для РМЖ в зависимости от степени развития опухоли, наличия метастазов, типа проводимого лечения. Уровни цитокинов сыворотки крови действительно могут служить прогностическим критерием эффективности проводимой терапии и риска метастазирования РМЖ.

Цитокины лимфы как маркеры онкогенеза и эффективности терапии при экспериментальной опухоли молочной железы крыс Wistar. У крыс с РМЖ по сравнению с интактными животными в лимфе значимо выше уровни цитокинов IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-12, IL-13, IL-17A, MIP-1 α , MIP-3 α , RANTES, TNF- α , MCP-1 и значимо ниже уровни GRO/KC и IL -10 (рис.10).

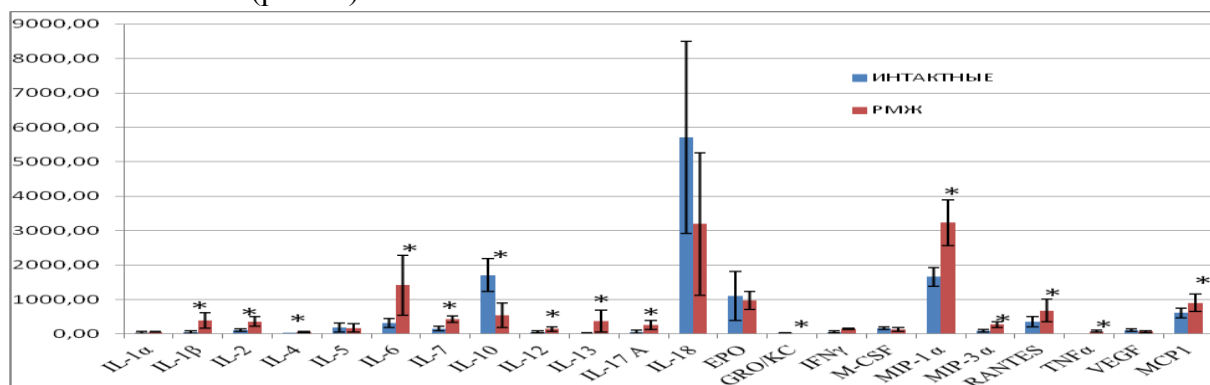


Рис. 10. Концентрация цитокинов в лимфе крыс-опухоленосителей РМЖ по сравнению с интактными животными (пг/мл)

Оперативное удаление опухоли привело к значимому снижению в лимфе уровней цитокинов IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-7, IL-12, IL-13, IL-18, MIP-1 α , MIP-3 α , RANTES по сравнению с группой крыс с РМЖ без операции (рис.11).

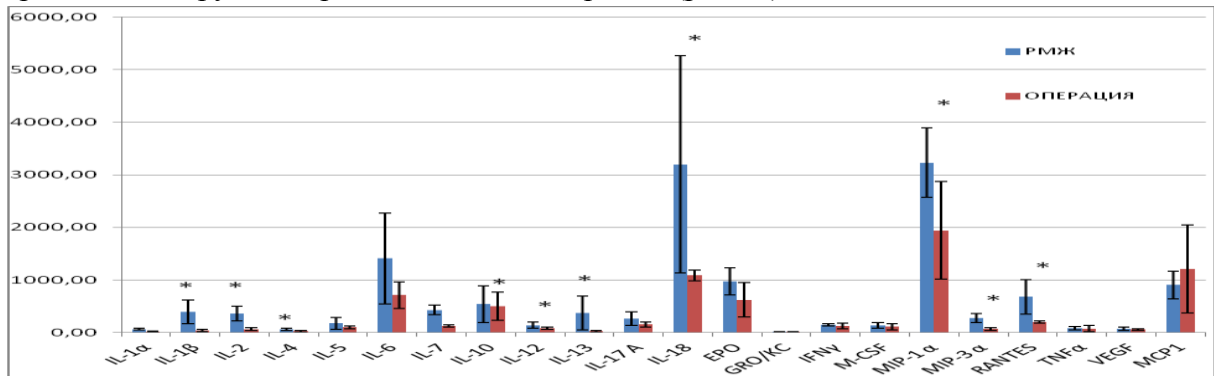


Рис. 11. Концентрация цитокинов в лимфе крыс-опухоленосителей РМЖ по сравнению с оперированными животными (пг/мл)

Проведение ПХТ привело к значимому снижению уровней IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-7, IL-10, MIP-1 α , MIP-3 α , RANTES в лимфе крыс-самок с РМЖ по сравнению с группой животных-опухоленосителей без проведения полихимиотерапии (рис.12).

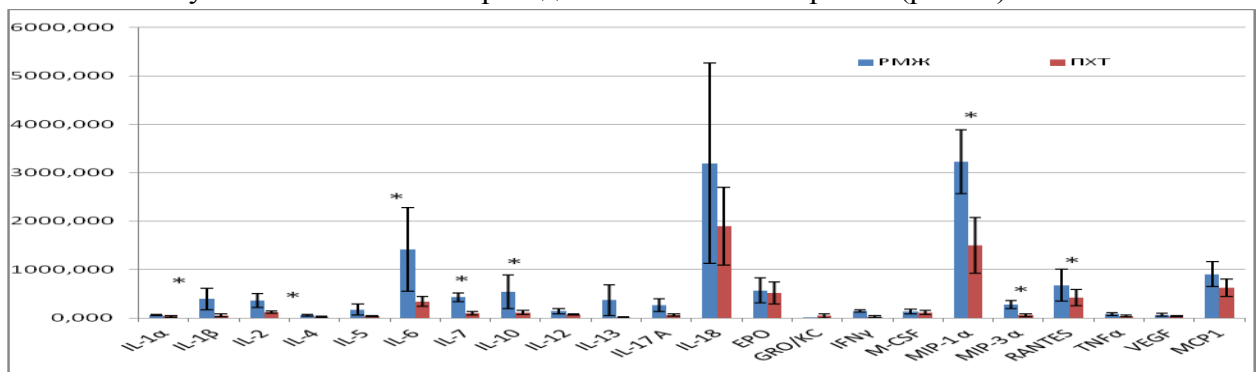


Рис. 12. Концентрация цитокинов в лимфе крыс с РМЖ по сравнению с животными-опухоленосителями после проведения полихимиотерапии (пг/мл)

Соответственно, в группе крыс после операции (рис.13), концентрация цитокинов IL7, IL-10, IL-12, EPO, MIP-3 α , MCP-1 в лимфе значимо выше, чем в группе животных после хирургического удаления РМЖ в сочетании с ПХТ, а уровни цитокинов IL-1 α , IL-2, RANTES достоверно выше в группе крыс после оперативного лечения и проведения ПХТ.

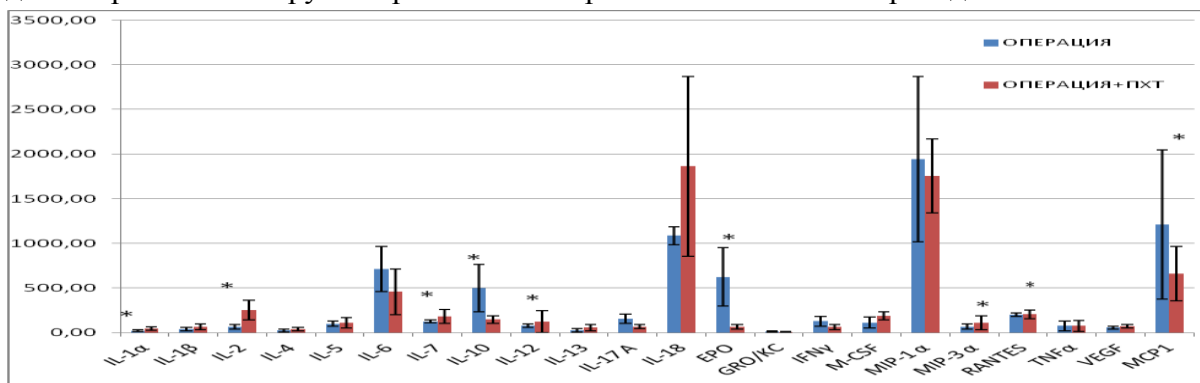


Рис. 13. Концентрация цитокинов в лимфе крыс после хирургического удаления РМЖ по сравнению с животными после операции и проведения полихимиотерапии (пг/мл)

Концентрация цитокинов IL-5, IL-6, IL-7, IL-10, IL-13, IL-17A, IL-18, GRO/KC, IFN γ , MIP-3 α в лимфе после удаления ЭОМЖ в сочетании с ПХТ по сравнению с животными после операции, проведения ПХТ и введения препарата «Панаген» в лимфе значительно выше в группе после введения препарата «Панаген» (рис.14).

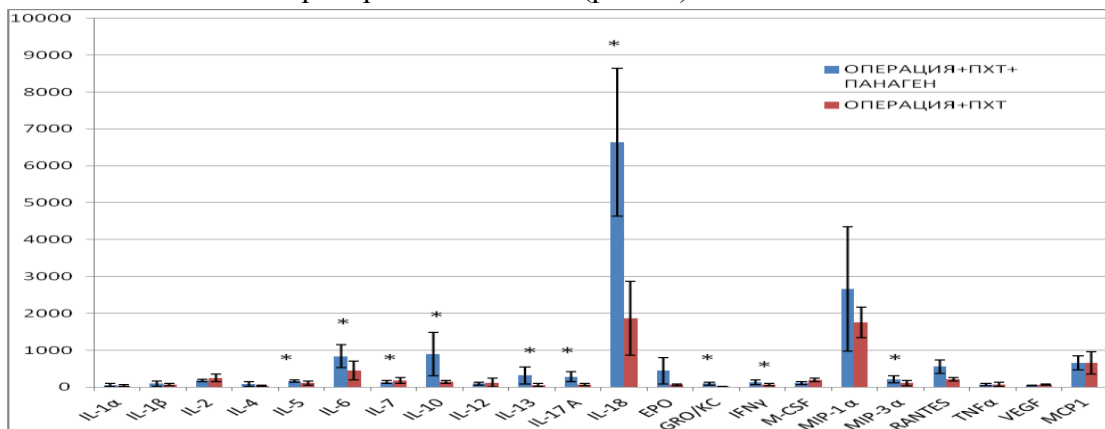


Рис. 14. Концентрация цитокинов в лимфе крыс после удаления РМЖ в сочетании с полихимиотерапией по сравнению с животными после операции, проведения полихимиотерапии и введения препарата «Панаген» (пг/мл)

В группе прооперированных животных значимо выше уровни IL-6, IL-17A, GRO/KC, RANTES, а уровни цитокинов IL-10, IL-18 значимо ниже по сравнению с интактными животными (рис.15).

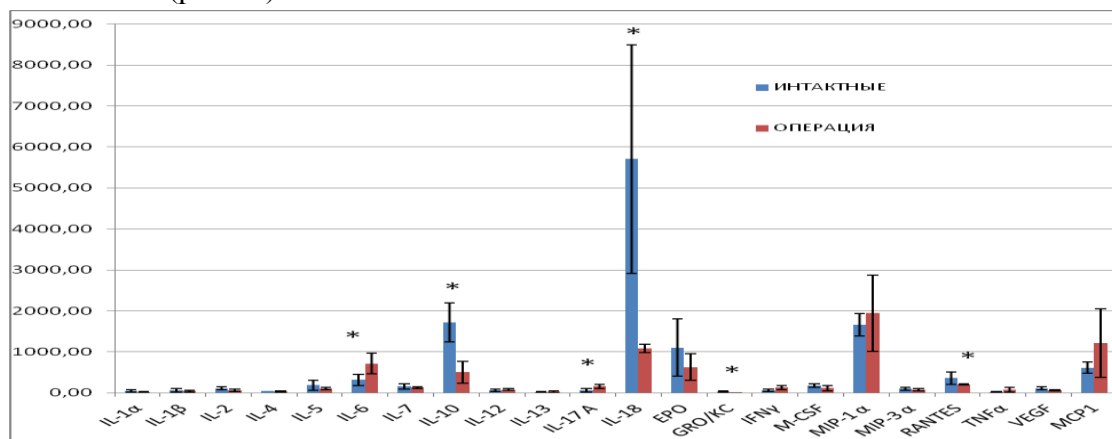


Рис. 15. Концентрация цитокинов в лимфе крыс после удаления РМЖ по сравнению с интактными (пг/мл)

После удаления РМЖ и проведения ПХТ уровни IL-4, IL-5, IL-10, IL-18, EPO и IFN γ значимо ниже, а уровень TNF- α значимо выше по сравнению с интактной группой (рис.16).

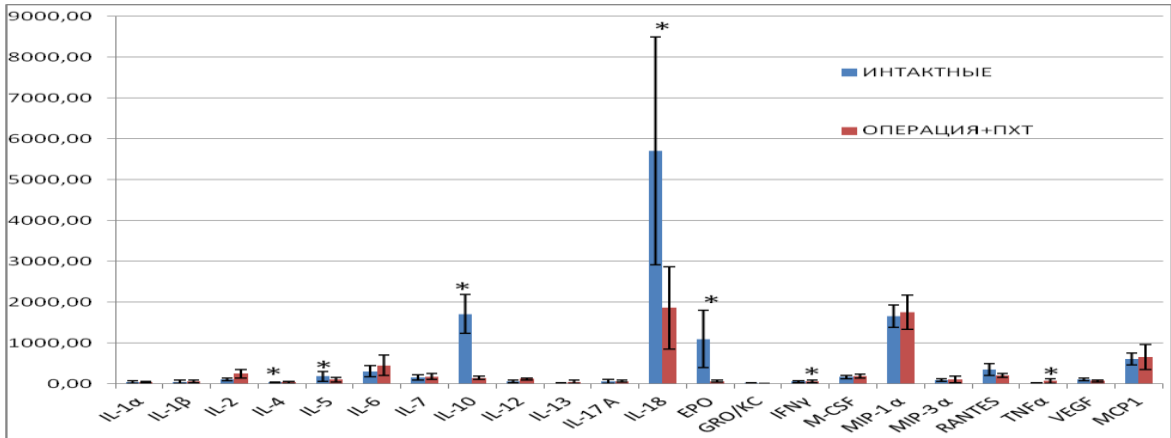


Рис. 16. Концентрация цитокинов в лимфе крыс после хирургического удаления РМЖ и проведения полихимиотерапии по сравнению с интактными животными (пг/мл)

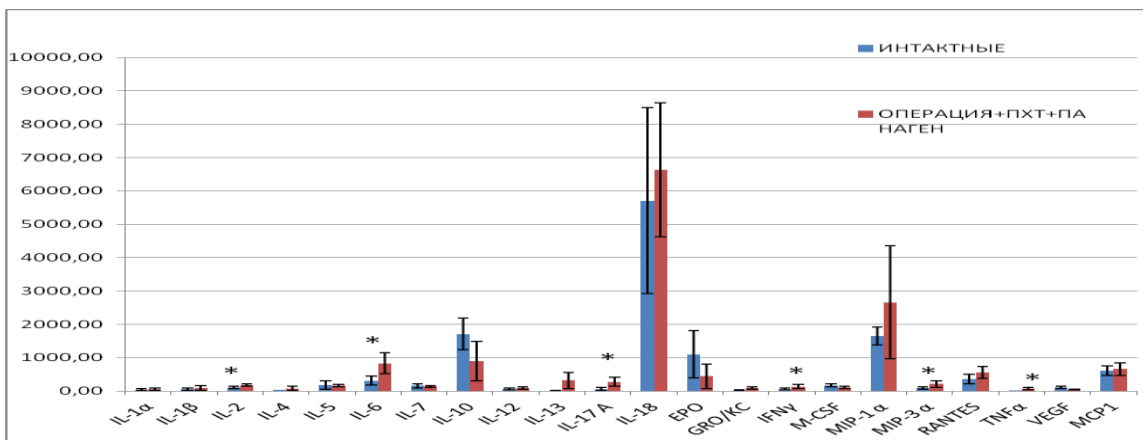


Рис. 17. Концентрация цитокинов в лимфе крыс после хирургического удаления РМЖ в сочетании с полихимиотерапией и введением препарата «Панаген» по сравнению с интактными животными (пг/мл)

На рисунке 17 видно, что концентрация цитокинов IL-2, IL-6, IL-17A, IFN γ , MIP-3 α , TNF- α значимо выше в группе животных после хирургического удаления РМЖ в сочетании с ПХТ и введением препарата «Панаген» по сравнению с интактными животными.

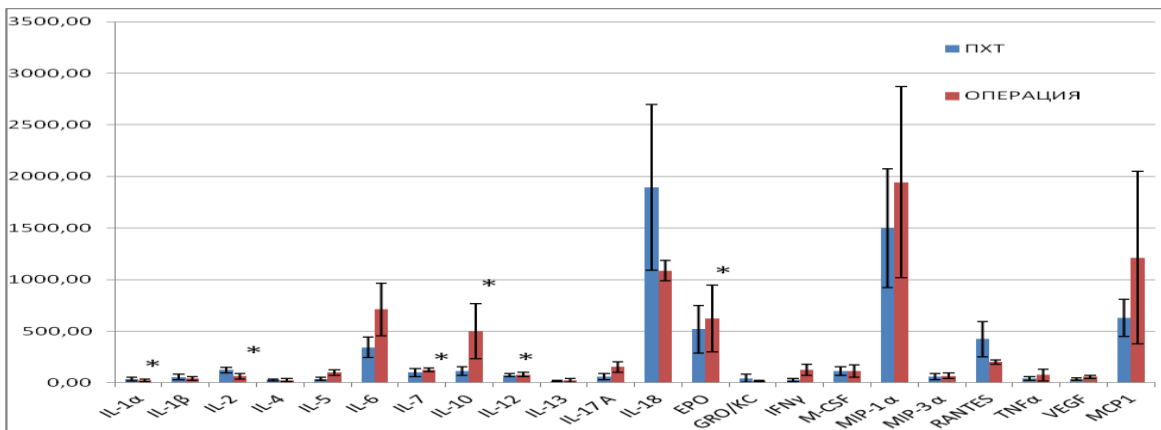


Рис. 18. Концентрация цитокинов в лимфе крыс после удаления РМЖ по сравнению с группой крыс после проведения полихимиотерапии (пг/мл)

Согласно рис. 18, концентрация цитокинов IL-1 α , IL-2, IL-7, IL-12 в лимфе значительно выше в группе животных после проведения ПХТ, а уровни цитокинов IL-10, EPO значительно выше в группе прооперированных животных.

При сравнительном исследовании цитокинового профиля лимфы крыс с различным подходом к лечению РМЖ в каждой группе было установлено, что количественное содержание цитокинов в лимфе при РМЖ зависит от типа проводимой противоопухолевой терапии. Опухоль стимулирует продукцию цитокинов различных функциональных подтипов, основными источниками которых являются иммунокомпетентные клетки, клетки опухолевого микроокружения и клетки самой опухоли. Продукция цитокинов изменяется в процессе прогрессирования и метастазирования опухоли, а также при попытках подавления развития опухоли. Уровни цитокинов лимфы могут служить диагностическим критерием опухолевого роста и риска метастазирования РМЖ, а также прогностическим критерием эффективности проводимой терапии.

Статистически значимые различия между группами крыс с РМЖ и интактных животных были получены для MIP-1 α , MIP-3 α , RANTES, TNF- α , MCP-1, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-12, IL-13, IL-17A – их концентрация была выше у крыс с РМЖ. Кроме того, для IFN- γ также был показан рост у крыс с РМЖ, но эти изменения не были статистически значимы. Уровень таких провоспалительных цитокинов как IL-1 β , IL-6 и TNF- α увеличился при РМЖ в 7,5 раза ($p=0,016$); в 4,5 раза ($p=0,0088$); в 3,9 раза ($p=0,009$), соответственно.

Индукция РМЖ привело к повышению уровня в лимфе ряда хемокинов, таких как MCP-1, RANTES, MIP-1 α , MIP-3 α , соответственно в 1,4 раза ($p=0,028$); в 1,9 раза ($p=0,027$); в 2,2 раза ($p=0,009$); в 2,8 раза ($p=0,009$), а кроме того к снижению продукции GRO/KC в 2 раза ($p=0,02$). Помимо этого, индукция РМЖ привело к статистически значимому снижению продукции противовоспалительного цитокина IL-10 в 3,1 раза ($p=0,0088$), что, вероятно, способно оказывать иммуносупрессивное действие и ослабить противоопухолевую защиту организма.

Хирургическое удаление опухоли у подопытных крыс привело к достоверному снижению содержания в лимфе провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-2, IL-12, IL-18 соответственно, в 9,5 раза ($p=0,009$); в 5,6 раза ($p=0,009$); в 1,75 раза ($p=0,047$); в 2,9 раза ($p=0,009$).

Снижение концентрации в лимфатической жидкости противоопухолевых цитокинов у крыс с удаленной опухолью по сравнению с не прооперированными крысами достоверно показано для IL-4 (в 4,6 раза, $p=0,001$), IL-13 (в 13 раз, $p=0,01$). Также при сравнении этих групп показано достоверное снижение цитокина IL-7 (в 4,9 раза, $p=0,009$), хемокинов RANTES (в 3,7 раза, $p=0,016$), MIP-1 α (в 2,1 раза, $p=0,047$), MIP-3 α (в 4 раза, $p=0,009$). Концентрация цитокина IL-10 в лимфатической жидкости крыс после оперативного удаления опухоли не изменилось по сравнению с группой не прооперированных крыс.

При сравнении концентрации цитокинов в лимфе в группе прооперированных крыс по сравнению с интактными крысами обнаружено, что содержание IL-6 и IL-17A в группе прооперированных животных было достоверно выше в 2,2 раза ($p=0,03$) и в 2,1 раза ($p=0,047$), соответственно, что позволяет считать их маркерами метастазирования. Сравнительное исследование показателей содержания цитокинов в лимфе группы крыс после удаления опухоли с группой интактных животных показало, что содержание IL-10, IL-18, GRO/KC, RANTES было достоверно ниже ($p<0,05$) в группе прооперированных животных. Хотя показатели концентрации в лимфе прооперированных животных TNF- α , MCP-1 выше

по сравнению с интактной группой, (TNF- α - в 3,3 раза, а MCP-1 - в 1,9 раза) статистически эти различия не значимы (соответственно, $p=0,12$ и $p=0,17$).

Проведение ПХТ у крыс с РМЖ привело к достоверному снижению содержания в лимфе IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-7, IL-10, MIP-1 α , MIP-3 α , RANTES по сравнению с группой крыс с РМЖ без ПХТ: в 6,3 раза ($p=0,016$); в 2,8 раза ($p=0,047$); в 2,5 раза ($p=0,047$); в 2,3 раза ($p=0,008$); 3,7 раза ($p=0,02$); в 2,2 раза ($p=0,046$); в 2,5 раза ($p=0,028$); в 3,3 раза ($p=0,009$), соответственно.

При исследовании концентрации цитокинов в лимфе крыс после удаления РМЖ и ПХТ по сравнению группой крыс после удаления РМЖ не было обнаружено достоверных различий для большинства исследованных цитокинов. Однако содержание IL-7, IL-10, EPO, MIP-3 α , MCP-1 в лимфе было достоверно ниже в группе крыс с оперативным удалением РМЖ и ПХТ по сравнению с группой крыс, у которых было проведено только оперативное удаление опухоли. В данном случае имеют место изменения продукции маркеров метастазирования, таких как MIP-3 α , MCP-1, но в то же время отсутствуют изменения концентрации MIP-1 α , VEGF, IL-1 β , IL-6. При сочетании оперативного удаления РМЖ и ПХТ IL-1 α , IL-2, IL-12, RANTES была выше, по сравнению с группой крыс с оперативным лечением.

Сравнительное исследование концентрации цитокинов в лимфе прооперированных животных после проведения ПХТ без введения «Панагена» и после введения «Панагена» показало, что после терапии препаратом «Панаген» концентрация цитокинов IL-5, IL-6, IL-7, IL-10, IL-13, IL-17A, IL-18, GRO/KC, IFN γ , MIP-3 α достоверно выросла.

При сравнении группы прооперированных крыс с ПХТ и «Панагеном» с интактной группой крыс был обнаружен достоверный рост концентрации IL-6, IL-13, IL-17A, MIP-3 α , IFN γ , что отражает стимулирующее влияние препарата «Панаген» на лимфоидные клетки. То есть, цитостатики в сочетании с препаратом ДНК, по-видимому, стимулировали лимфоидные клетки иммунной системы.

ВЫВОДЫ

1. При сравнительном исследовании уровней цитокинов в сыворотке крови и лимфе крыс-самок Wistar при экспериментальном раке молочной железы обнаружено, что уровни цитокинов IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-12, IL-13, IL-17A, IFN- γ , MIP-1 α , MIP-3 α , RANTES, TNF- α , MCP-1 значимо выше, чем у интактных животных, что позволяет считать указанные цитокины маркерами опухолевого роста; Уровень IL-10 крыс с РМЖ значимо ниже в сыворотке крови и лимфе по сравнению с интактными животными, что свидетельствует об иммуносупрессии при опухолевом росте; снижение уровней хемокина GRO/KC в лимфе животных с РМЖ свидетельствует об ослаблении хемотаксиса лимфоидных клеток в лимфе крыс-опухоленосителей;

2. Оперативное удаление опухоли приводит к снижению уровней провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-2, IL-12, IL-18, TNF- α), хемокинов (MIP-1 α , MIP-3 α , RANTES), противовоспалительных цитокинов IL-4, IL-13 в сыворотке крови по сравнению с уровнями животных-опухоленосителей, что совпадает с показателями лимфы и свидетельствует о том, что указанные цитокины продуцируются клетками опухоли; Содержание IL-6, TNF- α и хемокина MCP-1 в сыворотке крови прооперированных животных значимо выше по сравнению с интактными животными, что позволяет считать их не только провоспалительными маркерами, но и маркерами метастазирования; в лимфе маркерами метастазирования являются IL-6 и IL-17A, IL-18;

3. Снижение уровней IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-7, IL-12, MIP-1 α , MIP-3 α , RANTES в сыворотке крови и лимфе крыс с РМЖ после проведения полихимиотерапии, отражает антипролиферативный эффект полихимиотерапии не только на лимфоидные клетки, но и на клетки опухоли.

4. Сравнительное исследование уровней цитокинов в лимфе и сыворотке крови прооперированных животных после проведения полихимиотерапии и введения препарата дцДНК «Панаген» показало, что большинство цитокинов IL-5, IL-6, IL-7, IL-10, IL-13, IL-17A, IL-18, GRO/KC, IFN γ , MIP-3 α в лимфе выше после введения препарата «Панаген». Это свидетельствует о том, что цитостатики в сочетании с препаратом дцДНК человека «Панаген» не только обеспечивают противоопухолевый эффект, но и стимулируют лимфоидные клетки иммунной системы;

5. Цитокины лимфы и сыворотки крови при экспериментальном раке молочной железы являются маркерами опухолевого роста и метастазирования, их уровни зависят от вида проводимого лечения.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Кабаков А.В., Казаков О.В., Райтер Т.В., Миллер Т.В., Чепик В.И., Повещенко А.Ф., Коненков В.И. Регионарные лимфатические узлы и тимус при экспериментальном канцерогенезе молочной железы. // Вестник Уральской Медицинской Академической Науки. – 2014. – Т. 3 (49). – С. 25 - 26.

2. Кабаков А.В., Лыков А.П., Морозов Д.В., Казаков О.В., Повещенко А.Ф., Райтер Т.В., Стрункин Д.Н., Коненков В.И. Фенотипическая характеристика химически индуцированной опухоли молочной железы. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2017. – Т. 163 (4). – С. 490 - 493.

3. Казаков О.В., Кабаков А.В., Ищенко И.Ю., Повещенко А.Ф., Райтер Т.В., Стрункин Д.Н., Мичурина С.В., Коненков В.И. Тимус при экспериментальном канцерогенезе молочной железы и полихимиотерапии. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2016. – Т. 162 (10). – С. 476 - 480.

4. Казаков О.В., Кабаков А.В., Повещенко А.Ф., Ищенко И.Ю., Повещенко О.В., Стрункин Д.Н., Райтер Т.В., Мичурина С.В., Коненков В.И. Изменение структуры тимуса при разных способах лечения экспериментальной опухоли молочной железы. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2016. – Т. 162 (11). – С. 607 - 611.

5. Казаков А.В., Кабаков А.В., Повещенко А.Ф., Лыков А.П., Райтер Т.В., Стрункин Д.Н., Ищенко И.Ю., Мичурина С.В., Коненков В.И. Тимус после хирургического удаления экспериментальной опухоли молочной железы и полихимиотерапии. // Сибирский научный медицинский журнал. – 2016. – Т. 36 (4). – С. 45 - 50.

6. Казаков О.В., Кабаков А.В., Повещенко А.Ф., Миллер Т.В., Чепик В.И., Райтер Т.В., Стрункин Д.Н., Ларионов П.М., Коненков В.И. Тимус при экспериментальном канцерогенезе молочной железы. // Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина. – 2014. – Т. 12 (3). – С. 58 - 62.

7. Казаков О.В., Кабаков А.В., Повещенко А.Ф., Райтер Т.В., Стрункин Д.Н., Богачев С.С., Ищенко И.Ю., Лыков А.П., Мичурина С.В., Коненков В.И. Паратимические лимфатические узлы при разных способах лечения экспериментального рака молочной железы. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2017. – Т. 164 (11). – С. 617 - 621.

8. Казаков О.В., Кабаков А.В., Повещенко А.Ф., Райтер Т.В., Стрункин Д.Н., Ищенко И.Ю., Лыков А.П., Мичурина С.В., Коненков В.И. Паратимические лимфатические узлы при химически индуцированном раке молочной железы // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2017. – Т. 164 (8). – С. 215 - 219.
9. Коненков В.И., Лыков А.П., Кабаков А.В., Райтер Т.В., Бондаренко Н.А., Повещенко О.В., Казаков О.В., Повещенко А.Ф., Стрункин Д.Н., Колмыков С.К., Чанышев М.Д., Гуляева Л.Ф. Сопряженность уровней микроРНК в сыворотке крови с количеством и функциональной активностью клеток гемо- и лимфопоэза при экспериментальном раке молочной железы. // Вопросы онкологии. – 2016. – Т. 62 (3). – С. 519 - 524.
10. Лыков А.П., Кабаков А.В., Повещенко О.В., Бондаренко Н.А., Повещенко А.Ф., Казаков О.В., Никонорова Ю.В., Коненков В.И. Эффективность терапии клеточным продуктом острого инфаркта миокарда у крыс линии Wistar по данным биоэлектрической активности миокарда. // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2014. – Т. 8 (4). – С. 78 - 84.
11. Лыков А.П., Бондаренко Н.А., Повещенко О.В., Кабаков А.В., Райтер Т.В., Казаков О.В., Стрункин Д.Н., Повещенко А.Ф., Коненков В.И. Изучение эффекта экзогенной ДНК на показатели гемо- и лимфопоэза при экспериментальном раке молочной железы у крыс линии Wistar. // Фундаментальные исследования. – 2014. – Т. 8 (4). – С. 877 - 880.
12. Лыков А.П., Бондаренко Н.А., Повещенко О.В., Кабаков А.В., Райтер Т.В., Казаков О.В., Стрункин Д.Н., Повещенко А.Ф., Коненков В.И. Отмена антипролиферативного действия цитостатических препаратов экзогенной ДНК на клетки экспериментального рака молочной железы у крыс линии Wistar. // Фундаментальные исследования. – 2014. – Т. 8 (4). – С. 881 - 885.
13. Лыков А.П., Бондаренко Н.А., Повещенко О.В., Кабаков А.В., Райтер Т.В., Казаков О.В., Стрункин Д.Н., Повещенко А.Ф., Коненков В.И. Сравнительный анализ содержания в лимфе гормонов, вовлеченных в патогенез рака молочной железы у крыс линии Wistar. // Сибирский онкологический журнал. – 2015. – Т. 1. – С. 64 - 67.
14. Лыков А.П., Бондаренко Н.А., Повещенко О.В., Кабаков А.В., Райтер Т.В., Казаков О.В., Стрункин Д.Н., Шурлыгина А.В., Повещенко А.Ф., Коненков В.И. Влияние экзогенной ДНК на цитокин продуцирующую активность клеток гемо- и лимфопоэза при экспериментальном раке молочной железы у крыс линии Wistar. // Фундаментальные исследования. – 2014. – Т. 8 (4). – С. 871 - 876.
15. Лыков А.П., Кабаков А.В., Бондаренко Н.А., Повещенко О.В., Райтер Т.В., Казаков О.В., Стрункин Д.Н., Повещенко А.Ф., Орлов Н.Б., Коненков В.И. Уровни гормонов, микроРНК и цитокинов в лимфе в норме и при раке молочной железы в эксперименте. // Сибирский онкологический журнал. – 2016. – Т. 15 (5). – С. 33 - 39
16. Лыков А.П., Кабаков А.В., Казаков О.В., Бондаренко Н.А., Повещенко О.В., Райтер Т.В., Повещенко А.Ф., Стрункин Д.Н., Коненков В.И. Уровни микроРНК и гормонов в лимфе грудного протока крыс на модели рака молочной железы, индуцированной N-метил-N-нитрозомочевинной. // Бюллетень экспериментальной медицины и биологии. – 2016. – Т. 9. – С. 374 - 377.
17. Лыков А.П., Кабаков А.В., Райтер Т.В., Бондаренко Н.А., Повещенко О.В., Казаков О.В., Повещенко А.Ф., Стрункин Д.Н., Колмыков С.К., Чанышев М.Д., Гуляева Л.Ф., Коненков В.И. Уровни микроРНК в тканях молочной железы при экспериментальной модели рака молочной железы. // Успехи современного естествознания. – 2015. – Т. 2. – С. 81 - 83.

18. Лыков А.П., Кабаков А.В., Райтер Т.В., Бондаренко Н.А., Повещенко О.В., Казаков О.В., Повещенко А.Ф., Стрункин Д.Н., Колмыков С.К., Чанышев М.Д., Гуляева Л.Ф., Коненков В.И. Сопряженность тканевой экспрессии микроРНК при экспериментальном раке молочной железы у крыс wistar с циркулирующими уровнями микроРНК в крови и лимфе. // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – Т. 2 (2). – С. 237 - 241.
19. Лыков А.П., Кабаков А.В., Райтер Т.В., Бондаренко Н.А., Повещенко О.В., Казаков О.В., Повещенко А.Ф., Стрункин Д.Н., Колмыков С.К., Чанышев М.Д., Гуляева Л.Ф., Коненков И.В. Уровни микроРНК в лимфе при экспериментальной модели рака молочной железы. // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – Т. 6 – С. 445 - 452.
20. Повещенко А.Ф., Казаков О.В., Орлов Н.Б., Повещенко О.В., Ким И.И., Бондаренко Н.А., Миллер Т.В., Соловьева И.Г., Стрункин Д.Н., Кабаков А.В., Райтер Т.В., Лыков А.П., Рогачев В.А., Богачев С.С., Коненков В.И. Цитокины сыворотки крови как маркеры онкогенеза и эффективности терапии при экспериментальной опухоли молочной железы крыс Wistar. // Фундаментальные исследования. – 2015. – Т. 1 (8) – С. 1664 - 1670.
21. Повещенко А.Ф., Казаков О.В., Орлов Н.Б., Повещенко О.В., Ким И.И., Бондаренко Н.А., Соловьева И.Г., Стрункин Д.Н., Кабаков А.В., Райтер Т.В., Лыков А.П., Богачев С.С., Покушалов Е.А., Коненков В.И. Цитокины лимфы как маркеры онкогенеза и эффективности терапии при экспериментальной опухоли молочной железы крыс Wistar. // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2016. – Т. 60 (3). – С.68 - 75.
22. Повещенко А.Ф., Орлов Н.Б., Казаков О. В., Повещенко О.В., Чепик В.И, Ким И.И., Бондаренко Н.А., Миллер Т.В., Стрункин Д.Н., Узварик Л.М., Кабаков А.В., Москальчук Т.В. (Райтер Т.В.), Коненков В.И. Онтогенетические и гендерные особенности цитокинового профиля лимфы и сыворотки крови крыс. // Бюллетень СО РАМН. – 2014. – Т. 4. – С. 5 - 10.
23. Lykov A.P., Kabakov A.V., Kazakov O.V., Bondarenko N.A., Poveshchenko O.V., Rayter T.v., Poveshchenko A.F., Strunkin D.N., Bogashev S.S., Pokushalov E.A., Konenkov V.I. Feature of Experimental Breast Cancer Induced by Intermammary Administration of N-Methyl-N-Nitrosourea in Wistar Rat. // Int J Pharmacol, Phytochem Ethnomed. – 2017. – V. 6. – P. 54 - 71.
24. Poveshchenko A., Orlov N., Kazakov O., Poveshchenko O., Kim I., Bondarenko N., Miller T., Strunkin D., Kabakov A., Reiter T., Konenkov V. Age and Gender differences in cytokine profile of lymph and blood serum // Adv Aging Res. – 2014. – V. 3 (3). – P. 216 - 221.
25. Казаков О.В., Кабаков А.В., Повещенко А.Ф., Райтер Т.В., Стрункин Д.Н., Повещенко О.В., Лыков А.П., Коненков В.И. Исследование влияния неоадьювантной и адьювантной терапии экспериментального рака молочной железы на структуру брыжеечных лимфатических узлов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2018. Т.166, №8. С.204-208.
26. Лыков А.П., Кабаков А.В., Бондаренко Н.А., Повещенко О.В., Райтер Т.В., Казаков О.В., Стрункин Д.Н., Суровцева М.А., Повещенко А.Ф., Коненков В.И. Опухоль-ассоциированные мезенхимные стволовые клетки при химически индуцированном раке молочной железы у крыс WISTAR // Сибирский онкологический журнал. 2019. Т.18, №1. С.56–64.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

- ПХТ – полихимиотерапия
РМЖ – рак молочной железы
CAF / FAC - схемы лечения при опухолях, включающие в себя циклофосфан, доксорубин и 5-фторурацил
CMF – схема лечения при опухолях, включающая в себя циклофосфан, метотрексат и 5-фторурацил
Epo – эритропоэтин
ER – рецептор к эстрогену
IL – интерлейкин
INF – интерферон
G-CSF – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор
GM-CSF – гранулоцитарный-моноцитарный колониестимулирующий фактор
CSF1 – колониестимулирующий фактор 1
CXС, CC, и XC – семейства хемокинов
HER2 – рецептор к эпидермальному фактору роста
Ki-67 – ядерный антиген
MCP – моноцитарный хемоаттрактантный протеин
M-CSF – моноцитарный колониестимулирующий фактор
MIP – макрофагальный воспалительный белок, хемокин
RANTES – хемокин, выделяемый Т-клетками при активации
SCF – фактор стволовых клеток
TGF – трансформирующий ростовой фактор
TNF – фактор некроза опухоли
VEGF – фактор роста эндотелия сосудов
GRO/KC – хемокин, принадлежащий семейству CXС
(Keratinocyte chemoattractant (KC)/growth-regulated oncogene (GRO))

