

## **ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ СОДЕРЖАНИЕМ ЦИТОКИНОВ ЛИМФЫ ГРУДНОГО ЛИМФАТИЧЕСКОГО ПРОТОКА И СТРУКТУРНЫМИ ПРЕОБРАЗОВАНИЯМИ В БРЫЖЕЕЧНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛАХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ХИМИОТЕРАПИИ**

**Олег Васильевич КАЗАКОВ, Татьяна Владимировна РАЙТЕР, Александр Федорович ПОВЕЩЕНКО, Николай Борисович ОРЛОВ, Ольга Владимировна ПОВЕЩЕНКО, Алексей Васильевич КАБАКОВ, Александр Петрович ЛЫКОВ, Ирина Иннокентьевна КИМ, Наталья Анатольевна БОНДАРЕНКО, Дмитрий Николаевич СТРУНКИН, Владимир Иосифович КОНЕНКОВ**

*НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН 630060, г. Новосибирск, ул Тимакова, 2*

Цель исследования – проведение корреляционного анализа данных морфометрии брыжеечных лимфатических узлов и концентрации цитокинов в лимфе грудного протока при раке молочной железы (РМЖ), индуцированном интрамаммарным введением N-метил-N-нитрозомочевины, и химиотерапии по схеме ЦМФ (циклофосфан + метотрексат + 5-фторурацил). При РМЖ выявлены положительные взаимосвязи: в герминативных центрах и мозговых тяжах между количеством митотически делящихся клеток и содержанием IL-5, количеством средних лимфоцитов и содержанием MIP-1 $\alpha$ , в герминативных центрах между количеством иммунобластов и содержанием цитокина GRO/KC, в паракортикальной зоне между содержанием MCP-1 и количеством макрофагов, количеством ретикулярных клеток и содержанием IL-6 и M-CSF, в мозговых синусах между количеством малых лимфоцитов, зрелых плазматических клеток и содержанием GRO/KC. Все это может свидетельствовать об активности местного иммунного ответа в лимфатических узлах, направленного на противоопухолевую защиту. После химиотерапии РМЖ, по сравнению с РМЖ без лечения, выявлены положительные взаимосвязи, которые могут свидетельствовать о повышении иммуномодулирующего и противоопухолевого действия цитокинов: корреляция содержания IFN $\gamma$  с количеством малых лимфоцитов и макрофагов в герминативных центрах, с количеством митотически делящихся клеток в мозговых тяжах, корреляция в герминативных центрах количества иммунобластов с содержанием MIP-1 $\alpha$  и увеличение количества малых лимфоцитов в T-зависимой зоне лимфатических узлов, корреляция в мозговых тяжах содержания интерлейкина IL-17 с количеством зрелых плазматических клеток, корреляция содержания интерлейкина IL-18 с количеством зрелых плазматических клеток в мозговых синусах. **Заключение.** Исследование взаимосвязи концентрации цитокинов в лимфе грудного протока со структурными изменениями в брыжеечных лимфатических узлах выявило изменения, направленные на повышение иммуномодулирующего и противоопухолевого действия цитокинов.

**Ключевые слова:** лимфатические узлы, молочная железа, опухоль, терапевтические мероприятия, профилактическое лечение.

**Автор для переписки:** Казаков О.В., e-mail: kazakoff\_oleg@mail.ru

**Для цитирования:** Казаков О.В., Райтер Т.В., Повещенко А.Ф., Орлов Н.Б., Повещенко О.В., Кабаков А.В., Лыков А.П., Ким И.И., Бондаренко Н.А., Стрункин Д.Н., Коненков В.И. Взаимосвязь между содержанием цитокинов лимфы грудного лимфатического протока и структурными преобразованиями в брыжеечных лимфатических узлах при экспериментальном раке молочной железы и химиотерапии. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2019; 39 (5): 84–91. doi: 10.15372/SSMJ20190510.

## CORRELATION BETWEEN CYTOKINE CONTENT IN LYMPH OF THORACIC LYMPH DUCT AND MESENTERIC LYMPH NODE STRUCTURAL TRANSFORMATIONS IN EXPERIMENTAL MAMMARY TUMOR AND CHEMOTHERAPY

Oleg Vasilievich KAZAKOV, Tatyana Vladimirovna RAYTER,  
Alexandr Fedorovich POVESHCHENKO, Nikolay Borisovich ORLOV,  
Olga Vladimirovna POVESHCHENKO, Alexey Vasilievich KABAKOV,  
Alexandr Petrovich LYKOV, Irina Innokentyevna KIM,  
Nataliya Anatolyevna BONDARENKO, Dmitriy Nikolaevich STRUNKIN,  
Vladimir Iosifovich KONENKOV

Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology –  
Branch of Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of SB RAS  
630060, Novosibirsk, Timakov str., 2

The aim of the study was to fulfill correlation analysis of morphometry of the mesenteric lymph nodes and the concentration of cytokines in the lymph of the thoracic duct in breast cancer induced by intramammary administration of N-methyl-N-nitrosourea, chemotherapy according to the CMF scheme (cyclophosphamide, methotrexate, 5-fluorouracil). **The results of the study.** At breast cancer revealed positive correlation: in the germinative centers and medullary cords of cytokine IL-5 with mitotically dividing cells, chemokines MIP-1 $\alpha$  with average lymphocytes, in the germinative centers of immunoblasts with cytokine GRO/KC, in the paracortical zone chemokine MCP-1 with macrophages, reticular cells with IL-6 and M-CSF, in the medullary sinuses chemokine GRO/KC with small lymphocytes and mature plasma cells (number which decreases). All this may indicate the activity of the local immune response in the lymph nodes aimed on the antitumor protection. After chemotherapy of breast cancer, compared with breast cancer without treatment, revealed positive relationship, which may indicate increased immunomodulatory and antitumor actions of cytokines: correlation of interferon IFN $\gamma$  with small lymphocytes (number which increased) and macrophages in the germinative centers and mitotically dividing cells in the medullary cords, correlation in the germinative centers of immunoblasts with MIP-1 $\alpha$  and increased of number small lymphocytes in T-dependent zone lymph nodes, correlation in medullary cords of interleukin IL-17 with mature plasma cells (number which increased), correlation of interleukin IL-18 with mature plasma cells in medullary sinuses. **Conclusion.** Study of the correlation of the concentration of cytokines in the lymph of the thoracic duct with structural changes in the mesenteric lymph nodes revealed dependencies aimed at increasing the immunomodulating and antitumor effects of cytokines

**Key words:** lymph nodes, mammary gland, tumor, therapeutic measures, preventive treatment.

**Correspondence author:** Kazakov O.V., e-mail: kazakoff\_oleg@mail.ru

**Citation:** Kazakov O.V., Rayter T.V., Poveshchenko A.F., Orlov N.B., Poveshchenko O.V., Kabakov A.V., Lykov A.P., Kim I.I., Bondarenko N.A., Strunkin D.N., Konenkov V.I. Correlation between cytokine content in lymph of thoracic lymph duct and mesenteric lymph node structural transformations in experimental mammary tumor and chemotherapy. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2019; 39 (5): 84–91. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20190510.

Рак молочной железы (РМЖ) – самая широко диагностируемая онкопатология и частая причина смертности у женщин в большинстве стран мира [15]. Одним из патогенетических механизмов возникновения и прогрессии опухолевого роста являются белковые медиаторы – цитокины, в том числе хемокины и ростовые факторы. Цитокины секретируются как лимфоидными, так и опухолевыми клетками, оказывая влияние на множество различных клеток-мишеней, играя свою роль в патогенезе опухолевого роста и метастазирования, которое происходит преимущественно лимфогенно [4, 9]. При метастазировании основным,

а зачастую и единственным методом лечения рака служит химиотерапия (ХТ), которая усугубляет имеющийся дисбаланс в иммунной системе, оказывая повреждающее действие на лимфоидную ткань, что является одной из центральных проблем терапии опухолей. Изучение взаимосвязи содержания цитокинов в лимфе со структурными изменениями в брыжеечных лимфатических узлах при химически индуцированном РМЖ, который имеет много общего с РМЖ у человека [8, 18], и после его ХТ позволит оценить состояние местного иммунного ответа при данном способе лечения.

Целью исследования явилось изучение взаимосвязи между содержанием цитокинов различных функциональных групп в лимфе грудного лимфатического протока и морфологическими показателями структурно-функциональных зон брыжеечных лимфатических узлов крыс с РМЖ и после его ХТ.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперимент проведен на 40 половозрелых (возраст 3 месяца на начало эксперимента, масса 250–300 г) крысах-самках Wistar. Все эксперименты выполнены в соответствии с «Правилами работ с использованием экспериментальных животных», утвержденными приказом Минздрава России № 577 от 12.08.77, с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директиве Европейского сообщества (86/609/ЕС). Было сформировано три группы животных: 1-я группа – интактные животные; 2-я группа – РМЖ без лечения; 3-я группа – ХТ РМЖ (через 6 месяцев от момента индукции РМЖ). Животных из эксперимента выводили через 6,5 месяцев от момента индукции РМЖ под наркозом (40 мг/кг внутривенно нембутала, «Sigma-Aldrich», США). РМЖ индуцировали введением N-метил-N-нитрозомочевины («Sigma-Aldrich») 5 раз с интервалом в 7 суток, подкожно в область 2-й молочной железы справа. Курс ХТ включал 15 мг/кг 5-фторурацила и 2,5 мг/кг метотрексата («Ebewe Pharma», Австрия; внутривенно на 1-е и 8-е сутки курса ХТ), 3 мг/кг циклофосфана («Биохимия», внутривенно ежедневно однократно в течение 14 суток). На основании результатов гистологического и иммуногистохимического исследования через 6 месяцев верифицирован аналог люминального В типа РМЖ человека [1].

Гистологическое исследование брыжеечных лимфатических узлов (краниальных) проводили по стандартной методике. При микроскопии определяли общую площадь среза лимфатических узлов, площадь лимфоидных узелков с герминативными центрами и без них, коркового плато и паракортикальной зоны, мозговых тяжей и мозговых синусов, краевого синуса, капсулы и трабекул. Лимфу забирали из цистерны грудного лимфатического протока, куда оттекает лимфа от краниальных брыжеечных лимфатических узлов. Концентрацию 24 цитокинов в лимфе оценивали методом проточной флуориметрии на 2-лучевом лазерном автоматизированном анализаторе «Bio-Plex Assay System» («Bio-Rad», США) с использованием коммерческой тест-системы «Bio-Plex Pro™ Rat Cytokine 24-plex Assay» (определяемый динамический диапазон 2–32 000 пг/мл) в соот-

ветствии с инструкцией фирмы-производителя («Bio-Rad») [3].

Переменные представлены в виде медианы и межквартильных интервалов (Me (Q1–Q3)), значения содержания цитокинов, выходящие за нижнюю границу чувствительности метода (< 2 пг/мл), принимали за 1 пг/мл; для оценки различий между группами использовали критерий Манна – Уитни. Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы ( $p$ ) принимали равным 0,05. Связь между признаками определяли с помощью корреляционного анализа величины коэффициента корреляции Спирмена ( $r$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

При лечении РМЖ цитостатиками, по сравнению с РМЖ без лечения, выявлено статистически значимое уменьшение общей площади брыжеечных лимфатических узлов (на 56 %), площади лимфоидных узелков с герминативными центрами (на 78 %) и без них (на 50 %), площади мозговых тяжей (на 50 %), площади паракортикальной зоны (на 61 %), площади мозговых синусов (на 59 %), площади краевого синуса (на 67 %), количества опухолевых клеток в мозговых синусах (на 40 %), при исследовании цитоархитектоники герминативных центров – увеличение количества малых лимфоцитов при уменьшении числа иммунобластов, митотически делящихся клеток, средних лимфоцитов и макрофагов (табл. 1).

При РМЖ в герминативных центрах лимфоидных узелков выявлена положительная корреляция между содержанием в лимфе GRO/KC (growth-regulated oncogene/keratinocyte chemoattractant, хемокин, принадлежащий семейству СХС) и количеством иммунобластов, между содержанием макрофагального воспалительного белка 1 $\alpha$  (MIP-1 $\alpha$ ) и количеством средних лимфоцитов, между содержанием цитокина интерлейкин 5 (IL-5) и количеством митотически делящихся клеток, между содержанием цитокина IL-12 и количеством ретикулярных клеток (табл. 2). При ХТ РМЖ в герминативных центрах лимфоидных узелков наблюдалась статистически значимая взаимосвязь между содержанием MIP-1 $\alpha$  и количеством иммунобластов, содержанием интерферона  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) и количеством малыми лимфоцитов и макрофагов.

По сравнению с РМЖ без лечения при ХТ в паракортикальной зоне возросло количество малых лимфоцитов и уменьшилось число макрофагов (см. табл. 1). При этом в группе с РМЖ без лечения выявлена положительная корреляция между количеством макрофагов и содержанием моноцитарного хемоаттрактивного белка

**Таблица 1.** Клеточный состав структурно-функциональных зон брыжеечных узлов у крыс Wistar в норме, при экспериментальном РМЖ и ХТ, Ме (Q1–Q3)

**Table 1.** Cellular composition of mesenteric nodes from Wistar rats in norm, after experimental mammary tumors and chemotherapy, Me (Q1–Q3)

Клеточный элемент	Интактные животные	РМЖ Ме (LQ–HQ) (2)	ХТ Ме (LQ–HQ) (3)
<i>Герминативные центры вторичных лимфоидных узлов</i>			
Иммунобласты	8,4 (7,2–9,0)	9,4 (9,4–9,8)	3,2 (3,0–3,4) <sup>1,2</sup>
Средние лимфоциты	16,0 (15,6–16,6)	15,0 (14,0–15,2)	9,2 (8,8–9,2) <sup>1,2</sup>
Малые лимфоциты	40,4 (37,4–40,6)	26,4 (26,4–26,6) <sup>1</sup>	31,0 (31,4–32,8) <sup>1,2</sup>
Макрофаги	3,4 (3,0–3,6)	5,2 (4,8–5,4) <sup>1</sup>	1,6 (1,6–1,8) <sup>1,2</sup>
Ретикулярные клетки	5,0 (4,8–6,0)	4,2 (4,2–4,6)	4,6 (4,2–4,8)
Митозы	1,6 (1,4–1,6)	2,6 (2,2–2,6) <sup>1</sup>	0,0 (0,0–0,4) <sup>1,2</sup>
<i>Паракортикальная зона</i>			
Иммунобласты	1,2 (0,8–1,2)	0,6 (0,4–0,6)	0,2 (0,2–0,4)
Средние лимфоциты	4,6 (4,6–5,2)	4,0 (4,0–4,4)	3,8 (3,8–4,8)
Малые лимфоциты	77,6 (75,6–82,0)	64,8 (63,6–67,8) <sup>1</sup>	83,0 (82,2–83,0) <sup>1,2</sup>
Макрофаги	2,8 (2,8–3,0)	4,8 (4,8–5,8) <sup>1</sup>	1,0 (1,0–1,2) <sup>1,2</sup>
Ретикулярные клетки	3,6 (3,4–4,0)	4,4 (4,0–4,6)	3,8 (3,4–3,8) <sup>2</sup>
Тучные клетки	0,2 (0–0,2)	0,2 (0–0,2)	0,2 (0,2–0,4)
<i>Мозговые тяжи</i>			
Средние лимфоциты	5,2 (5,0–7,2)	7,0 (6,8–7,8)	8,8 (6,0–8,8)
Малые лимфоциты	17,4 (17,4–17,8)	11,8 (11,4–12,2) <sup>1</sup>	14,8 (14,6–15,2) <sup>1,2</sup>
Иммунобласты	1,4 (1,4–1,6)	1,2 (1,2–1,6)	1,4 (1,2–1,4)
Незрелые плазмоциты	4,8 (4,8–5,2)	5,0 (5,0–7,0)	12,4 (11,2–13,8) <sup>1,2</sup>
Зрелые плазмоциты	21,4 (20,6–24,0)	16,0 (15,2–17,6) <sup>1</sup>	21,4 (20,6–21,6) <sup>2</sup>
Макрофаги	2,8 (2,4–2,8)	6,0 (6,0–6,2) <sup>1</sup>	3,8 (3,6–4,0) <sup>1,2</sup>
Ретикулярные клетки	3,2 (2,8–3,4)	6,0 (5,8–6,2) <sup>1</sup>	7,4 (7,2–8,0) <sup>1,2</sup>
Митозы	0,2 (0,2–0,4)	0,6 (0,4–0,8)	0,2 (0,2–0,4)
Нейтрофилы	0,2 (0,2–0,2)	0,2 (0,2–0,2)	0,2 (0,2–0,2)
<i>Мозговые синусы</i>			
Средние лимфоциты	4,0 (3,8–4,6)	3,4 (3,0–4,0)	3,0 (3,0–3,8)
Малые лимфоциты	18,0 (16,8–18,8)	11,4 (10,4–11,8) <sup>1</sup>	10,2 (9,8–10,2) <sup>1,2</sup>
Иммунобласты	0,8 (0,8–0,8)	1,0 (1,0–1,2)	0,4 (0,2–0,4) <sup>1,2</sup>
Незрелые плазмоциты	4,8 (4,4–5,0)	3,6 (3,0–3,8) <sup>1</sup>	4,2 (3,8–4,4)
Зрелые плазмоциты	14,2 (13,0–14,4)	9,2 (9,2–9,6) <sup>1</sup>	14,0 (13,0–14,4) <sup>2</sup>
Макрофаги	2,2 (2,0–2,4)	4,4 (5,4–5,4) <sup>1</sup>	2,4 (2,4–2,6) <sup>2</sup>
Ретикулярные клетки	5,8 (4,8–6,0)	6,6 (6,0–6,6)	6,2 (5,2–6,2)
Тучные клетки	0,2 (0,2–0,2)	0,2 (0,0–0,2)	0,0 (0,0–0,4)
Нейтрофилы	0,0 (0,0–0,4)	0,2 (0,0–0,2)	0,2 (0,2–0,4)

*Примечание.* Обозначены статистически значимые ( $p < 0,05$ ) отличия от величин соответствующих показателей: 1 – группы контроля, 2 – группы «РМЖ».

(MCP-1), между количеством ретикулярных клеток и содержанием ИЛ-6 и макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF), между количеством тучных клеток и содержанием ИЛ-5. При ХТ РМЖ значимых взаимосвязей между содержанием цитокинов в лимфе и количеством клеток паракортикальной зоны лимфатических узлов не выявлено.

В мозговых тяжах при ХТ по сравнению с РМЖ без лечения возросло количество малых

лимфоцитов, зрелых и незрелых плазматических клеток, при уменьшении количества макрофагов (см. табл. 1). При РМЖ выявлена положительная корреляция между количеством митотически делящихся клеток и содержанием ИЛ-5, между количеством средних лимфоцитов и содержанием MIP-1 $\alpha$ , при ХТ – между количеством иммунобластов и содержанием M-CSF, между количеством митотически делящихся клеток и содержанием IFN $\gamma$ , между количеством зрелых плазматических

**Таблица 2.** Статистически значимые корреляционные связи между количеством клеток в структурно-функциональных зонах брыжеечных лимфатических узлов и содержанием цитокинов в лимфе крыс с РМЖ и при ХТ (r)

**Table 2.** Statistically significant correlations between cell number in mesenteric lymph nodes and cytokine content in the lymph of rats with mammary tumors and after chemotherapy (r)

Вид клеток	Группа	IL-5	IL-12	IL-17	IL-18	GRO/KC	IFN $\gamma$	M-CSF	MIP-1 $\alpha$	MIP-3 $\alpha$	MCP-1
<i>Герминативные центры вторичных лимфоидных узлов</i>											
Иммунобласты	РМЖ	–	–	–	–	0,95	–	–	–	–	–
	ХТ	–	–	–	–	–	–	–	0,98	–	–
Средние лимфоциты	РМЖ	–	–	–	–	–	–	–	0,9	–	–
	ХТ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Малые лимфоциты	РМЖ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	ХТ	–	–	–	–	–	0,9	–	–	–	–
Макрофаги	РМЖ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	ХТ	–	–	–	–	–	0,98	–	–	–	–
Ретикулярные клетки	РМЖ	–	0,95	–	–	–	–	–	–	–	–
	ХТ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Митозы	РМЖ	0,98	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	ХТ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Паракортикальная зона</i>											
Макрофаги	РМЖ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,95
	ХТ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Ретикулярные клетки	РМЖ	–	–	–	–	–	–	0,9	–	–	–
	ХТ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Тучные клетки	РМЖ	0,95	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	ХТ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Мозговые тяжи</i>											
Средние лимфоциты	РМЖ	–	–	–	–	–	–	–	0,9	–	–
	ХТ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Иммунобласты	РМЖ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	ХТ	–	–	–	–	–	–	0,98	–	–	–
Зрелые плазмоциты	РМЖ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	ХТ	–	–	0,98	–	–	–	–	–	–	–
Митозы	РМЖ	0,9	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	ХТ	–	–	–	–	–	0,98	–	–	–	–
Нейтрофилы	РМЖ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	ХТ	–	0,9	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Мозговые синусы</i>											
Малые лимфоциты	РМЖ	–	–	–	–	0,9	–	–	–	–	–
	ХТ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Иммунобласты	РМЖ	–	–	–	–	–	0,89	–	–	0,89	–
	ХТ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Зрелые плазмоциты	РМЖ	–	–	–	–	0,97	–	–	–	–	–
	ХТ	–	–	–	0,9	–	–	–	–	–	–

клеток и содержанием IL-17, между количеством нейтрофилов и содержанием IL-12 (см. табл. 2).

В мозговых синусах при ХТ по сравнению с РМЖ без лечения уменьшено количество малых лимфоцитов, иммунобластов и макрофагов при увеличении числа зрелых плазматических клеток (см. табл. 1). При РМЖ показана положительная

корреляция между содержанием GRO/KC и количеством малых лимфоцитов, зрелых плазматических клеток, между количеством иммунобластов и содержанием IFN $\gamma$ , MIP-3 $\alpha$  (см. табл. 2). При ХТ РМЖ статистически значимая взаимосвязь между количеством зрелых плазматических клеток и содержанием IL-18.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Цитокины являются медиаторами сложных взаимодействий между иммунной системой организма и растущей опухолью. С одной стороны, они принимают участие в активации противоопухолевого иммунитета, направленного на уничтожение раковых клеток, с другой стороны, цитокины синтезируются самими опухолевыми клетками и участвуют в прогрессии и метастазировании опухолей [2]. При РМЖ без лечения выявленная взаимосвязь между концентрацией цитокинов в лимфе и морфологическими изменениями в лимфатических узлах может свидетельствовать о сохраняющейся активности местного звена иммунного ответа: увеличены площади герминативных центров лимфоидных узелков и мозговых тяжей, увеличено количество макрофагов в В- и Т-зависимых зонах, сохраняется количество незрелых форм клеток лимфоидного ряда в В- и Т- зонах. На сохранение активности местного иммунного ответа может также указывать корреляция между количеством митотически делящихся клеток герминативных центров и мозговых тяжей и содержанием иммунорегуляторного цитокина IL-5, который продуцируется Т-хелперами II типа и стимулирует пролиферацию и дифференцировку активированных В-клеток [17], а также корреляция между количеством средних лимфоцитов герминативных центров и мозговых тяжей и содержанием хемокина MIP-1 $\alpha$ , взаимосвязь между количеством иммунобластов и содержанием цитокина GRO/KC, определяющего хемотаксис иммунокомпетентных клеток.

В паракортикальной зоне группы РМЖ без лечения отмечаются также структурные признаки сохранения активности местного иммунного ответа: площадь паракортикальной зоны не изменена, в ней увеличено количество макрофагов, а также выявлена положительная взаимосвязь между их количеством и содержанием хемокина MCP-1, продуцируемого мезенхимальными стволовыми клетками, он способствует миграции и метастазированию клеток РМЖ. Цитокин IL-6 продуцируется не только мезенхимальными стволовыми клетками, но и макрофагами, индуцирует миграцию и инвазию клеток РМЖ [6, 7, 13]. Повидимому, положительная взаимосвязь между количеством ретикулярных клеток и содержанием IL-6 может быть обусловлена продуцированием его опухолевыми клетками и служить одним из факторов роста и прогрессирования опухоли. На это может указывать и взаимозависимость между количеством ретикулярных клеток и содержанием цитокина M-CSF, который оказывает влияние

на фагоцитарную активность, что может быть также обусловлено ростом первичной опухоли и ее метастазированием в лимфатические узлы. Выявленная корреляция между количеством тучных клеток, как способствующих гомеостазу в иммунной системе факторов, и содержанием IL-5 может также свидетельствовать о сохраняющейся активности местного иммунного ответа, направленного на противоопухолевую защиту. Отмечаемая в мозговых синусах прямая взаимосвязь между количеством малых лимфоцитов и зрелых плазматических клеток, с одной стороны, и содержанием GRO/KC, с другой стороны, может быть связана с миграцией данных клеток из лимфатического узла. Повышенная продукция IFN $\gamma$  и хемокина MIP-3 $\alpha$  прямо коррелирует с количеством иммунобластов в мозговых синусах.

Воздействие цитостатиков на живой организм неизбежно сопровождается развитием деструктивно-воспалительных процессов в тканях, вызывающим снижение фолликулярной реакции, митотической активности клеток в лимфатических узлах [10, 11, 16]. После ХТ РМЖ, по сравнению с РМЖ без лечения, об этом могут свидетельствовать структурные преобразования в лимфатических узлах: уменьшение площади первичных и вторичных лимфоидных узелков, мозговых тяжей, паракортикальной зоны, количества макрофагов в В- и Т-зависимых зонах. На снижение активности местного иммунного ответа после ХТ может также указывать уменьшение пролиферативной активности в герминативных центрах лимфоидных узелков: снижается количество иммунобластов, митотически делящихся клеток и средних лимфоцитов. При этом наблюдаемый дисбаланс концентрации цитокинов, очевидно, связан с ХТ. Об этом может свидетельствовать выявленная корреляция между содержанием IFN $\gamma$  и количеством малых лимфоцитов и макрофагов в герминативных центрах и митотически делящихся клеток в мозговых тяжях, которая также может быть связана с действием самого IFN $\gamma$ , обладающего иммуномодулирующим и противоопухолевым действием и усиливающего цитотоксические реакции, опосредованные Т-лимфоцитами.

О влиянии на иммунную систему также могут свидетельствовать корреляция в герминативных центрах между количеством иммунобластов и содержанием MIP-1 $\alpha$ , увеличение количества малых лимфоцитов в Т-зависимой зоне лимфатических узлов на фоне уменьшения ее площади, корреляция в мозговых тяжях между количеством зрелых плазматических клеток и содержанием интерлейкина IL-17, основное действие которого заключается в активации нейтрофилов и макро-

фагов в месте воспаления, а также в усилении активности большинства цитокинов, особенно провоспалительных [5]. К провоспалительным цитокинам относится и интерлейкин IL-12, содержание которого в лимфе коррелирует с количеством нейтрофилов в мозговых тяжах; IL-12 является ключевым цитокином для усиления клеточно-опосредованного иммунного ответа. Известно, что IL-18 непосредственно вовлечен в патогенез РМЖ, будучи одним из основных иммунорегуляторных цитокинов, принимающих участие в местном ответе организма на процессы опухолеобразования [12]. При этом IL-18, содержание которого в лимфе после проведения ХТ РМЖ прямо коррелирует с количеством зрелых плазматических клеток в мозговых синусах, по биологическим эффектам является функциональным дублером и синергистом IL-12 [14], способствуя преимущественной дифференцировке Т-хелперов 0 в Т-хелперы 1. Кроме того, IL-18 приводит к образованию GM-CSF и тем самым усиливает лейкопоэз.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При химически индуцированном РМЖ исследование содержания цитокинов в лимфе грудного протока и морфологических преобразований в брыжеечных лимфатических узлах выявило ряд зависимостей, которые могут быть обусловлены местным иммунным ответом в лимфатических узлах, направленным на противоопухолевую защиту. Морфологические преобразования в брыжеечных лимфатических узлах после ХТ РМЖ свидетельствуют о снижении активности местного иммунного ответа по сравнению с РМЖ без лечения. При этом исследование корреляции концентрации цитокинов в лимфе грудного протока со структурными изменениями в лимфатических узлах выявило изменения, направленные на повышение иммуномодулирующего и противоопухолевого действия цитокинов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. 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. *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. 2017; 163 (4): 490–493.  
Kabakov A.V., Lykov A.P., Morozov D.V., Kazakov O.V., Poveshchenko A.F., Rayter T.V., Strunkin D.N., Konenkov V.I. Phenotypical characteristics of chemically induced mammary tumor. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2017; 163 (4): 490–492. doi: 10.1007/s10517-017-3835-6.

2. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб.: Фолиант, 2008.

Ketlinskiy S.A., Simbirtsev A.S. Cytokines. Sankt-Peterburg: Foliant, 2008. [In Russian].

3. 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. *Патол. физиология и эксперим. терапия*. 2016; 60 (3): 68–75.

Poveshchenko A.F., Kazakov O.V., Orlov N.B., Poveshchenko O.V., Kim I.I., Bondarenko N.A., Solovyova I.G., Strunkin D.N., Kabakov A.V., Rayter T.V., Lykov A.P., Bogachev S.S., Pokushalov E.A., Konenkov V.I. Cytokines of lymph as markers of cancer progression and effectiveness of therapy in experimental breast tumors of rats WISTAR. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya = Pathological Physiology and Experimental Therapy*. 2016; 60 (3): 68–75. [In Russian].

4. Соснина А.В., Великая Н.В., Аутеншлюс А.И. Роль цитокинов в патогенезе злокачественных новообразований. Новосибирск: Вектор-Бест, 2013. 80 с.

Sosnina A.V., Velikaya N.V., Autenshlyus A.I. The role of cytokines in the pathogenesis of malignant neoplasms. Novosibirsk: Vektor-Best, 2013. 80 p. [In Russian].

5. Шипилов М.В., Иванов В.В. Th17-ответ организма при острых респираторных вирусных инфекциях различного генеза. *Цитокины и воспаление*. 2012; 11 (1): 109–113.

Shipilov M.V., Ivanov V.V. Th17 response of an organism in acute respiratory viral infections of various origins. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*. 2012; 11 (1): 109–113. [In Russian].

6. De Luca A., Gallo M., Aldinucci D., Ribatti D., Lamura L., D'Alessio A., de Filippi R., Pinto A., Normanno N. Role of the EGFR ligand/receptor system in the secretion of angiogenic factors in mesenchymal stem cells. *J. Cell Physiol* 2011; 226 (8): 2131–2138. doi: 10.1002/jcp.22548.

7. De Luca A., Lamura L., Gallo M., Maffia V., Normanno N. Mesenchymal stem cell-derived interleukin-6 and vascular endothelial growth factor promote breast cancer cell migration. *J. Cell Biochem*. 2012; 113 (11): 3363–3370. doi: 10.1002/jcb.24212.

8. Esendagli G., Yilmaz G., Canpinar H., Gunel-Ozcan A., Guc M., Guc D. Coexistence of different tissue tumorigenesis in an N-methyl-N-nitrosourea-induced mammary carcinoma model: a histopathological report in Sprague-Dawley rats. *Lab. Animals*. 2009; 43 (1): 60–64. doi: 10.1258/la.2008.007076.

9. Harrel M.I., Iritani B.M., Ruddell A. Tumor-induced sentinel lymph node lymphangiogenesis and increased lymph flow precede melanoma metastasis.

*Am. J. Pathol.* 2007; 170 (2): 774–786. doi: 10.2353/ajpath.2007.060761.

10. Ikezawa Y., Nakazawa M., Tamura C., Takahashi K., Minami M., Ikezawa Z. Cyclophosphamide decreases the number, percentage and the function of CD25+ CD4+ regulatory T cells, which suppress induction of contact hypersensitivity. *J. Dermatol. Sci.* 2005; 39 (2): 105–112. doi: 10.1016/j.jdermsci.2005.02.002.

11. Meneses A., Verastegui E., Barrera J.L., de la Garza J., Hadden J.W. Lymph node histology in head and neck cancer: Impact of immunotherapy with IRX-2. *Int. Immunol.* 2003; 3 (8): 1083–1091. doi: 10.1016/S1567-5769(03)00017-1.

12. Merendino R.A., Gangemi S., Ruello A., Bene A., Losi E., Lonbardo G., Purello-Dambrosio G. Serum levels of interleukin-18 and sICAM-1 in patients affected by breast cancer: preliminary considerations. *Int. J. Biol. Markers.* 2001; 16 (2): 126–129.

13. Molloy A.P., Martin F.T., Dwyer R.M., Griffin T.P., Murphy M., Barry F.P., O'Brien T., Kerin M.J. Mesenchymal stem cell secretion of chemokines during differentiation into osteoblasts, and their potential role in mediating interactions with breast cancer cells. *Int. J. Cancer.* 2009; 124 (2): 326–332. doi: 10.1002/ijc.23939.

14. Sugama S., Conti B. Interleukin-18 and stress. *Brain Res. Rev.* 2008; 58 (1): 85–95. doi: 10.1016/j.brainresrev.

15. Dhesy-Thind S., Fletcher G.G., Blanchette P.S., Clemons M.J., Dillmon M.S., Frank E.S., Gandhi S., Gupta R., Mates M., Moy B., Vandenberg T., van Poznak C.H. Use of adjuvant bisphosphonates and other bone-modifying agents in breast cancer: A Cancer Care Ontario and American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline. *J. Clin. Oncol.* 2017; 35 (18): 2062–2081. doi: 10.1200/JCO.2016.70.7257.

16. Su Y.C., Rolph M.S., Cooley M.A., Sewell W.A. Cyclophosphamide augments inflammation by reducing immunosuppression in a mouse model of allergic airway disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2006; 117 (3): 635–641. doi: 10.1016/j.jaci.2005.10.042.

17. Takatsu K. Interleukin 5 and B cell differentiation. *Cytokine Growth Factor Rev.* 1998; 9: 25–35.

18. Tsubura A., Lai Y.C., Miki H., Sasaki T., Uehara N., Yuri T., Yoshizawa K. Animal models of N-Methyl-N-nitrosourea-induced mammary cancer and retinal degeneration with special emphasis on therapeutic trials. *In Vivo.* 2011; 25 (1): 11–22.

#### Сведения об авторах:

**КазакOV О.В.**, к.б.н., ORCID: 0000-0003-3947-4038, e-mail: kazakoff\_oleg@mail.ru

**Райтер Т.В.**, ORCID: 0000-0003-0883-9516, e-mail: reitert@mail.ru

**Повешченко А.Ф.**, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-4433-7110, e-mail: poveshchenkoa200@mail.ru

**Орлов Н.Б.**, к.м.н., ORCID: 0000-0002-3437-7151, e-mail: nbo@ngs.ru

**Повешченко О.В.**, д.м.н., ORCID: 0000-0001-9956-0056, e-mail: PoveschenkoOV@yandex.ru

**Кабаков А.В.**, ORCID: 0000-0002-4741-6674, e-mail: Doctor03 -85@ngs.ru

**Лыков А.П.**, к.м.н., ORCID: 0000-0003-4897-8676, e-mail: aplykov2@mail.ru

**Ким И.И.**, к.м.н., ORCID: 0000-0002-7380-2763, e-mail: kii5@yandex.ru

**Бондаренко Н.А.**, к.м.н., ORCID: 0000-0002-8443-656X, e-mail: bond802888@yandex.ru

**Стрункин Д.Н.**, к.м.н., ORCID: 0000-0003-4357-7443, e-mail: strunkind@mail.ru

**Коненков В.И.**, д.м.н., академик РАН, ORCID: 0000-0001-7385-6270, e-mail: konenkov@soramn.ru

#### Information about authors:

**Kazakov O.V.**, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0003-3947-4038, e-mail: kazakoff\_oleg@mail.ru

**Rayter T.V.**, junior researcher, ORCID: 0000-0003-0883-9516, e-mail: reitert@mail.ru

**Poveshchenko A.F.**, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-4433-7110, e-mail: poveshchenkoa200@mail.ru

**Orlov N.B.**, candidate of medical Sciences, ORCID: 0000-0002-3437-7151, nbo@ngs.ru

**Poveshchenko O.V.**, doctor of medical sciences, orcid: 0000-0001-9956-0056, e-mail: PoveschenkoOV@yandex.ru

**Kabakov A.V.**, junior researcher, ORCID: 0000-0002-4741-6674, e-mail: Doctor03 -85@ngs.ru

**Lykov A.P.**, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-4897-8676, e-mail: aplykov2@mail.ru

**Kim I.I.**, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-7380-2763, e-mail: kii5@yandex.ru

**Bondarenko N.A.**, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-8443-656X, e-mail: bond802888@yandex.ru

**Strunkin D.N.**, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-4357-7443, e-mail: strunkind@mail.ru

**Konenkov V.I.**, doctor of medical sciences, academician of RAMS, ORCID: 0000-0001-7385-6270, e-mail: konenkov@soramn.ru