

*Н.В. Чердынцева**О.В. Кокорев**Е.А. Малиновская**Н.П. Коновалова**В.Т. Кагия**НИИ онкологии Томского
научного центра СО РАМН,
Томск, Россия**Институт проблем химической
физики РАН, Черноголовка,
Московская обл., Россия**Японская ассоциация по изучению
радиосенсибилизации, Киото,
Япония***Ключевые слова:***нитротриазолы,
иммунокомпетентные клетки,
злокачественный рост.*

МОДУЛЯЦИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ПЕРИТОНЕАЛЬНЫХ МАКРОФАГОВ И КЛЕТОК СЕЛЕЗЕНКИ РАДИОСЕНСИБИЛИЗАТОРОМ АК-2123

Резюме. На модели меланомы В-16 выявлена способность АК-2123 (радиосенсибилизатора класса нитротриазолов) модулировать противоопухолевую активность перитонеальных макрофагов и лимфоцитов селезенки. Отмечен параллелизм между активностью эффекторных клеток и ингибирующим эффектом препарата на рост и метастазирование опухоли при разных схемах его введения.

ВВЕДЕНИЕ

Препарат АК-2123 — N-(2'-метокси-этил)-2-(3"-нитро-1"-триазолил) ацетомид из класса нитротриазолов был синтезирован в Университете г. Киото (Япония) как гипоксический радиосенсибилизатор, обладающий меньшей токсичностью по сравнению с его аналогом мисонидазолом [1]. В экспериментах на интактных мышах [2] и на животных с модельными опухолями [3], а также при введении этого соединения здоровым людям-добровольцам [4] выявлено его иммуноактивирующее действие на цитотоксическую активность спленоцитов и макрофагов (МФ) мышей и моноцитов периферической крови людей. Было также установлено, что АК-2123 обладает способностью тормозить рост некоторых модельных опухолей и повышать эффективность их терапии с помощью циклофосфида [3, 5]. Учитывая данные об отсутствии прямого цитостатического действия АК-2123 на опухолевые клетки, можно предположить, что его противоопухолевый эффект, вероятно, обусловлен иммуностропной активностью, что открывает дополнительные возможности для использования этого препарата.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния АК-2123 на функциональную активность перитонеальных МФ и клеток-киллеров селезенки (КС) мышей с меланомой В-16 при разных схемах введения для обоснования оптимальных режимов его клинического использования.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проведены на 80 мышах (самцах и самках) линии С57В1/6 с массой тела 18–20 г, разводки питомника Томского научного центра СО РАМН.

Штамм перевиваемой меланомы В-16 получен из лаборатории опухолевых штаммов Онкологического научного центра РАМН (Москва). Радиосенсибилизатор предоставлен профессором В.Т. Кагия (Университет г. Киото, Япония). Препарат применяли в дозе 1 мг/кг внутривнутрибрюшинно по следующим схемам: 1) 10 дней ежедневно до перевивки меланомы В-16; 2) 10 дней ежедневно после трансплантации опухоли; 3) 10 дней до и 10 дней после трансплантации опухолевых клеток.

Противоопухолевый эффект АК-2123 оценивали на 28-е сутки после перевивки меланомы В-16 по торможению роста первичного опухолевого узла и ингибции частоты и интенсивности метастазирования в легкие [6]. Функциональное состояние МФ и лимфоцитов селезенки определяли на 11-е сутки роста опухолевого трансплантата. Обогащенную популяцию перитонеальных МФ получали на ступенчатом градиенте перкола («Pharmacia», Швеция) [7], неадгезивную фракцию КС выделяли по общепринятой методике. Цитостатическую активность МФ определяли по их способности ингибировать пролиферацию клеток мастоцитомы Р-815 (соотношение клеток-эффекторов и клеток-мишеней — 10:1) [8]. Киллерную активность КС определяли в мембранотоксическом тесте (соотношение клеток-эффекторов и клеток-мишеней К-562 — 25:1; инкубация — в течение 18–20 ч; 1 литическая единица (ЛЕ) — количество клеток-эффекторов, лизирующих 20% клеток-мишеней К-562, предварительно меченных ³Н-уридином (5 мкКи/мл, «Изотоп», Россия) [3]. Статистическую обработку проводили с помощью непараметрического критерия Вилкоксона–Манна–Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что предварительная обработка мышей АК-2123 в течение 10 дней до трансплантации опухоли тормозила рост первичной опухоли на 30% и ингибировала интенсивность метастазирования (среднее количество метастазов на 1 животное группы) на 21%. Частота метастазирования (процент мышей с метастазами в легких) при такой схеме введения АК-2123 не изменялась. У мышей, которым препарат вводили в течение 10 дней после инокуляции опухолевых клеток, отмечено торможение роста первичной опухоли на 25%, частоты метастазирования — на 13%, интенсивности метастазирования — на 70%. Наибольший эффект проявлялся при введении АК-2123 до и после трансплантации опухоли: торможение роста опухоли составило 63%, частоты метастазирования — 77%, интенсивности метастазирования — 89%.

Рост опухоли приводил к существенному снижению цитостатического действия перитонеальных МФ и цитотоксической активности КС, но не влиял на количество последних (таблица).

Выявлены существенные различия цитостатической активности МФ у мышей с меланомой В-16, получавших АК-2123, в зависимости от схемы введения препарата. Введение препарата до перевивки опухоли не предотвращало снижение активности МФ, введение в течение 10 дней после перевивки опухолевых клеток приводило к достоверному повышению цитостатической активности, которая, однако, была ниже, чем у интактных мышей. Более высокой цитостатической активностью (на уровне интактного контроля) обладали МФ животных, которые получали инъекции АК-2123 до и после трансплантации опухоли (см. таблицу).

При исследовании цитотоксической активности КС мышей не наблюдали ее восстановления при введении АК-2123 после перевивки опухоли. Однако при введении до перевивки или до и после нее препарат существенно повышал киллерную активность КС. Показатель цитотоксической активности КС, рассчитанный с учетом количества эффекторных клеток, был наивысшим в группе животных, получавших препарат в течение 20 дней. Введение АК-2123 до прививки опухоли также значительно повышала этот показатель. Следует отметить, что радиосенсибилизатор во всех использованных схемах введения увеличивал количество КС, что в свою очередь определяло повышение

интегрального уровня литической активности в пересчете на селезенку.

Представленные данные дают основания говорить о включении МФ или КС в реализацию эффектов радиосенсибилизатора АК-2123 в зависимости от времени назначения препарата. Максимальное ингибирующее влияние АК-2123 на рост и метастазирование меланомы В-16 при его использовании до и после перевивки опухоли ассоциируется с наиболее значительной активацией противоопухолевой активности указанных выше клеток. Синергическое действие этих клеток может играть важную роль в противоопухолевой активности АК-2123.

Как известно, активация в организме клеток, обладающих цитотоксической активностью, под действием различных агентов в ряде случаев может быть опосредована влиянием последних на продукцию интерферона [9]. В этой связи представляют интерес данные о том, что метронидазол, наиболее близкий по действию к препарату АК-2123, обладает интерференогенными свойствами [10]. Возможно, АК-2123 модулирует активность киллерных клеток посредством индукции эндогенного интерферона. Подтверждением этого могут служить полученные нами ранее данные о стимулирующем действии этого препарата на активность клеток-киллеров у интактных мышей линии С57В1/6, но не линии ВАLВ/с (последние считаются дефектными по способности продуцировать интерферон в ответ на действие ряда индукторов) [2].

Таким образом, радиосенсибилизатор АК-2123 в низких дозах при определенных схемах его введения (ежедневно в течение 20 дней) модулирует цитостатическую активность МФ и цитотоксическую активность спленоцитов мышей с меланомой В-16, что проявляется ингибированием роста опухоли и процесса метастазирования.

Эти данные позволяют говорить о новых перспективах использования АК-2123 в клинической онкологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kagiya VT. A Nitrotriazole derivative, АК-2123, as a hypoxic cells sensitizer; neurotoxicity and pharmacokinetics. Radiosensitization Newsletter 1986; 5: 1–2.
2. Tcherdyntseva NV, Kokorev OV, Konovalova NP, Kagiya VT. Activation of immunocompetent cells by ultra low doses of radisensitizer АК-2123 in healthy mice. Sensitisation Newsletter 1997; 4: 6–9.

Таблица

Цитостатическая активность перитонеальных МФ и спленоцитов мышей С57В1/6 с меланомой В-16, получавших радиосенсибилизатор АК-2123 по различным схемам ($M \pm m$)

Показатель	Группа животных				
	Интактные мыши	Мыши с опухолями	Мыши с опухолями, получавшие АК-2123		
			до перевивки опухоли	после перевивки опухоли	до и после перевивки опухоли
Цитостатический индекс МФ, %	48,4 ± 4,1	7,6 ± 1,9 *	13,5 ± 2,0 *	25,9 ± 7,4 * #	45,0 ± 4,4 #
Цитотоксический индекс КС, %	38,9 ± 3,1	28,0 ± 2,0 *	46,0 ± 3,4 * #	29,0 ± 2,7	51,0 ± 1,8 * #
Литическая активность в пересчете на селезенку, ЛЕ	777 ± 69	577 ± 82	1206 ± 109 * #	738 ± 72	1517 ± 80 * #
Количество спленоцитов, млн	130,0 ± 7,6	129,0 ± 8,0	152,5 ± 5,3 * #	154,8 ± 9,2 * #	171,6 ± 8,0 * #

* Различия достоверны по сравнению с контрольной группой; # — различия достоверны по сравнению с группой мышей, не получавших АК-2123.

3. Чердынцева НВ, Кокорев ОВ, Коновалова НР, Кагия ВТ. Радиосенсибилизатор АК-2123 усиливает цитотоксическую и цитостатическую активность спленоцитов и макрофагов мышей с карциномой легких Льюис, леченных циклофосфаном. Эксперим онкол 1997; 19: 333–7.

4. Чердынцева НВ. Иммунологические механизмы противоопухолевого действия модификаторов биологических реакций различной природы [Автореф дис ... д-ра биол наук]. Иркутск, 1999. 48 с.

5. Konovalova NP, Diatchkovskaya RF, Volkova LM, Kagiya VT. Antitumor effect of AK-2123 by ultra low doses daily administration in B-16 melanoma bearing mice. Sensitization Newsletter 1996; 3: 3–6.

6. Методические рекомендации по доклиническому изучению средств, обладающих способностью ингибировать процесс метастазирования и повышать эффективность цитостатической терапии злокачественных опухолей. Е.Д. Гольдберг, А.Б. Сыркин, ред. Москва, 1992. 16 с.

7. Hester RV, Walker WS. Separation of murine mononuclear phagocytes by density gradients of percoll. Methods for studying mononuclear phagocytes. New York: Academic Press. 1981: 195–200.

8. Богдашин ИВ. Цитостатическое действие клеток иммунной системы на опухолевые клетки. Бюл эксперим биол мед 1983; (6): 744–6.

9. Чекнев СБ. Фенотипическая и функциональная гетерогенность циркулирующего пула естественных киллеров. Иммунология 1999; (4): 24–33.

10. Козлов ВА, Колесникова ОП. Изучение иммуноактивных свойств метронидазола. Бюл СО АМН СССР 1987; (4): 87–90.

RADIOSENSITIZER AK-2123 MODULATES THE ANTITUMOR ACTIVITY OF LYMPHOCYTES AND MACROPHAGES

*N. V. Tcherdyntseva, O. V. Kokorev,
E. A. Malinovskaya, N. P. Konovalova, V. T. Kagiya*

Summary. *The modulatory effect of AK-2123 (a nitrotriazole-type radiosensitizer) on the antitumor activity of splenic lymphocytes and macrophages was studied in B-16 melanoma bearing mice. The high inhibitory effect of sanazole on tumor growth and metastasizing was shown to be associated with the increased cytostatic and membranotoxic activity of immunocompetent cells.*

Key Words: nitrotriazoles, immunocompetent cells, experimental tumors.