

УДК 612.017:616.155.392-006-053.8

**Шляхтиченко Т.Ю., Дягіль І.С., Мінченко Ж.М., Дмитренко І.В., Федоренко В.Г., Дмитренко О.О.**

## **ЗМІНИ СЕКРЕЦІЇ ПРОЗАПАЛЬНИХ ТА ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ В ПРОЦЕСІ ТАРГЕТНОЇ ТЕРАПІЇ ХРОНІЧНОЇ МІЄЛОЇДНОЇ ЛЕЙКЕМІЇ**

ДУ «Національний Науковий центр радіаційної медицини НАМН України», м. Київ

*Порушення балансу у системі цитокінів вважається важливим механізмом в розвитку хронічної мієлоїдної лейкемії (ХМЛ), оскільки основу більшості онкогематологічних захворювань складає пухлинний процес, який розвивається з імунокомпетентних клітин та їх попередників. Пухлинний ріст спричиняє порушення в системі цитокінів, що проявляється дисбалансом їх регуляції та продукції. Цитокіни здатні паракринно стимулювати ріст неопластичних клітин, активувати антиапоптозні фактори, порушувати регуляторні функції імунної системи. Пухлинна трансформація гемопоетичних клітин також може бути пов'язана з аутокринною продукцією в пухлинних клітинах цитокінів, стимулюючих проліферацію, та експресію їх рецепторів. Визначення особливостей секреції імунокомпетентними клітинами прозапальних і протизапальних цитокінів в процесі таргетної терапії хворих на ХМЛ дозволяє розширити уявлення про внесок імунологічної компоненти в формування резистентності до терапії іматинібом і удосконалити спектр діагностичних і прогностичних критеріїв перебігу захворювання і ефективності лікування.*

Ключові слова: хронічна мієлоїдна лейкемія, цитокіни, інтерлейкіни, імунна відповідь, таргетна терапія.

*Дана робота є фрагментом НДР «Комплексна оцінка ефективності таргетної терапії хворих на хронічну мієлоїдну лейкемію з урахуванням імуногенетичних, цитогенетичних та молекулярно-генетичних характеристик патологічного клону клітин», № держ. реєстрації 0110U000179.*

### **Вступ**

Хронічна мієлоїдна лейкемія (ХМЛ) – клональне мієлопроліферативне захворювання, розвиток якого пов'язаний із реципрокною хромосомною транслокацією t(9;22)(q34,q11) у стовбуровій гемопоетичній клітині та утворенням Філадельфійської хромосоми (Ph<sup>+</sup>) [3].

Таргетна терапія інгібітором BCR-ABL тирозинкінази Іматинібом Мезилатом (ІМ) дозволяє досягти значного пригнічення Ph<sup>+</sup> – пухлинного клону та сприяє відновленню нормального кровотворення, що призводить до збільшення тривалості життя хворих [3]. Іматиніб Мезилат – перший препарат, вживання якого у більшості хворих в хронічній фазі (ХФ) ХМЛ призводить не тільки до клініко-гематологічної, а й до цитогенетичної і молекулярної ремісії [3, 5]. Однак частина пацієнтів або нечутливі до препарату, або на тлі триваючої терапії втрачають досягнутий результат [6, 7].

З метою визначення додаткових патогенетичних та прогностичних факторів, а також для оцінки ефективності протипухлинної терапії проведено дослідження продукції цитокінів в динаміці лікування ХФ ХМЛ інгібітором BCR-ABL-тирозинкінази – Іматинібом Мезилатом.

Порушення балансу у системі цитокінів вважається важливим механізмом в розвитку ХМЛ, оскільки цитокіни здатні паракринно стимулювати ріст неопластичних клітин, активувати антиапоптозні фактори, порушувати регуляторні функції імунної системи [1, 2, 9]. Пухлинна трансформація гемопоетичних клітин також може бути пов'язана з аутокринною продукцією в пухлинних клітинах цитокінів, стимулюючих проліферацію та експресію їх рецепторів [2, 6, 8].

Визначення особливостей секреції імунокомпетентними клітинами прозапальних і протизапальних цитокінів в процесі таргетної терапії хворих на ХМЛ дозволяє розширити уявлення про внесок імунологічної компоненти в формування резистентності до терапії ІМ і удосконалити спектр діагностичних і прогностичних критеріїв перебігу захворювання і ефективності лікування.

Дослідження активності цитокінової секреції у хворих на ХМЛ на різних етапах таргетної терапії є інформативним прогностичним критерієм ефективності лікування інгібіторами тирозинкінази.

### **Мета дослідження**

Визначити особливості спонтанної секреції прозапальних та протизапальних цитокінів імунокомпетентними клітинами на різних етапах таргетної терапії іматинібом у хворих в хронічній фазі ХМЛ для удосконалення прогностичних критеріїв перебігу захворювання та відповіді на терапію.

### **Об'єкт і методи дослідження**

Концентрації інтерлейкінів (ІЛ), а саме ІЛ-2, основних інтерлейкінів запалення (ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІЛ-8), протизапальних інтерлейкінів (ІЛ-4, ІЛ-10), а також інтерферону- $\gamma$  (ІНФ- $\gamma$ ) і фактору некрозу пулін – $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ) визначали у зразках сироватки периферійної крові (ПК) та кісткового мозку (КМ) у 52 осіб, з них 26 осіб чоловічої та 26 жіночої статі. Всі пацієнти знаходилися в хронічній фазі захворювання. Хворі були обстежені до призначення специфічної таргетної терапії, через 6, 12 та 24 місяців лікування ІМ. Контрольну групу склали 45 практично здорових осіб (донори кро-

ві). Обраний нами спектр інтерлейкінів, концентрації яких ми визначали в зразках сироватки крові хворих на ХМЛ *in vitro* на момент встановлення діагнозу захворювання і протягом таргетної терапії найбільш яскраво відображають прозапальну, протизапальну, протипухлинну та цитотоксичну дію імунної відповіді.

Кількісну оцінку концентрації в сироватці периферійної крові зазначених цитокінів проводили методом твердофазного імуноферментного аналізу на аналізаторі «MULTISKAN ASCENT» виробництва «LABSYSTEMS» (Фінляндія). Використовували тест-системи та контрольні сироватки: ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-10, ФНП- $\alpha$ , ІНФ- $\gamma$  «DIACLONE» (виробництво Франція), згідно протоколів до тест-систем. Результати реакції визначали на багатоканальному спектрофотометрі при довжині хвилі 450 нм. За допомогою калібрувальної кривої розраховували концент-

рації зазначених цитокінів в пікограмах на 1 мл (пг/мл). Отримані дані оброблені за допомогою статистичного аналізу із використанням програми статистичної обробки даних STATISTICA 6.0 і методів кореляційного і дисперсного аналізів.

**Результати досліджень та їх обговорення**

Застосування таргетної терапії у хворих на ХМЛ призвело до значної різниці вмісту прозапальних, протизапальних інтерлейкінів та ІНФ- $\gamma$  в сироватці кісткового мозку та периферійної крові порівняно з такими в дебюті захворювання.

Були порівняні показники сироваткових рівнів ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-4, ІЛ-10, ІЛ-2, ФНП- $\alpha$  і ІНФ- $\gamma$  в групах хворих з ХФ ХМЛ до терапії ІМ та через 6 – 12 – 24 місяців специфічної протипухлинної терапії ІМ. Середньогрупові значення рівнів цитокінів залежно від терміну лікування представлені в табл. 1-2.

Таблиця 1  
Вміст цитокінів у сироватці КМ хворих ХФ ХМЛ залежно від терміну лікування

Цитокіни	n	Концентрація, пг/мл (КМ)			
		До терапії* M $\pm$ SD	6 місяців M $\pm$ SD	12 місяців M $\pm$ SD	24 місяці M $\pm$ SD
ІЛ-1 $\beta$	52	35,9 $\pm$ 5,54	20,9 $\pm$ 4,93**	13,9 $\pm$ 4,14**	9,5 $\pm$ 3,55**↓
ІЛ-6	52	38,8 $\pm$ 3,30	29,6 $\pm$ 4,71**	21,9 $\pm$ 6,19**	14,3 $\pm$ 3,27**↓
ІЛ-8	52	41,5 $\pm$ 2,33	29,6 $\pm$ 5,00**	22,8 $\pm$ 5,55**	15,4 $\pm$ 4,46**↓
ФНП- $\alpha$	52	1,3 $\pm$ 0,26	1,5 $\pm$ 0,29**	1,8 $\pm$ 0,31**	2,8 $\pm$ 0,67**↑
ІНФ- $\gamma$	52	25,7 $\pm$ 5,65	34,0 $\pm$ 7,54**	48,7 $\pm$ 8,46**	53,4 $\pm$ 8,20**↑
ІЛ-2	52	4,4 $\pm$ 0,88	8,6 $\pm$ 2,33**	11,8 $\pm$ 2,76**	13,8 $\pm$ 2,47**↑
ІЛ-4	52	5,8 $\pm$ 0,57	2,9 $\pm$ 0,72**	2,5 $\pm$ 0,94**	2,6 $\pm$ 0,87**↓
ІЛ-10	52	27,3 $\pm$ 4,54	24,1 $\pm$ 4,64**	17,6 $\pm$ 6,20**	11,6 $\pm$ 3,85**↓

Примітка: \* — представлено результати концентрації цитокінів до початку лікування ІМ;  
\*\* — вірогідність розбіжностей з показниками основної групи (до терапії)  $p < 0,001$ .

Таблиця 2  
Вміст цитокінів у сироватці ПК хворих ХФ ХМЛ залежно від терміну лікування

Цитокіни	Концентрація, пг/мл (ПК)				
	Контроль (n=45) M $\pm$ SD	до терапії** (n=52) M $\pm$ SD	6 місяців (n=52) M $\pm$ SD	12 місяців (n=52) M $\pm$ SD	24 місяці (n=52) M $\pm$ SD
ІЛ-1 $\beta$	3,02 $\pm$ 0,66	34,3 $\pm$ 4,50*	18,8 $\pm$ 4,74*	12,9 $\pm$ 3,40*	9,2 $\pm$ 3,51*↑
ІЛ-6	13,0 $\pm$ 2,04	37,0 $\pm$ 3,49*	28,7 $\pm$ 4,64*	20,9 $\pm$ 6,22*	14,6 $\pm$ 3,00*↑
ІЛ-8	9,0 $\pm$ 0,83	40,7 $\pm$ 2,18*	28,6 $\pm$ 4,42*	21,6 $\pm$ 5,73*	16,0 $\pm$ 4,19*↑
ФНП- $\alpha$	4,1 $\pm$ 0,65	1,3 $\pm$ 0,23*	1,5 $\pm$ 0,29*	1,8 $\pm$ 0,28*	2,9 $\pm$ 0,57*↓
ІНФ- $\gamma$	78,4 $\pm$ 5,40	27,8 $\pm$ 5,64*	33,1 $\pm$ 7,40*	46,3 $\pm$ 8,45*	53,9 $\pm$ 7,86*↓
ІЛ-2	13,3 $\pm$ 2,41	4,4 $\pm$ 0,76*	7,7 $\pm$ 2,04*	11,0 $\pm$ 2,72*	13,7 $\pm$ 2,39
ІЛ-4	3,5 $\pm$ 0,52	5,8 $\pm$ 0,57*	2,7 $\pm$ 0,63*	2,5 $\pm$ 0,84*	2,8 $\pm$ 0,84*↓↓
ІЛ-10	9,1 $\pm$ 0,61	27,3 $\pm$ 4,54*	23,6 $\pm$ 4,33*	16,7 $\pm$ 5,71*	12,2 $\pm$ 3,72*↑

Примітка: \* — вірогідність розбіжностей із показниками контрольної групи  $p < 0,001$ ; \*\* — представлено результати концентрації цитокінів до початку лікування ІМ.

Як видно із табл. 1-2, високі рівні спонтанної продукції про-, та протизапальних інтерлейкінів, визначені в дебюті захворювання, у більшості пацієнтів через 6 місяців лікування, як у ПК так і в КМ, достовірно знижувались. Найбільш підвищеним до початку лікування був вміст ІЛ-1 $\beta$ , його рівень перевищував показники контрольної групи у 5,2 разів. Через 6 місяців лікування концентрація ІЛ-1 $\beta$  знижувалась ~ у 2 рази. У групах пацієнтів з більш тривалим періодом лікування (12 - 24 місяців) даний показник мав таку ж тенденцію і з плином 24 місяців таргетної терапії

знизився у 3,7 разів, але залишався достовірно вищим порівняно із таким у контрольній групі. Ці показники були зіставлені з даними сироваткових рівнів ІЛ-6 та ІЛ-8, де також простежувалась залежність від терміну лікування (рис. 1).

Так, концентрація ІЛ-6 у сироватці ПК і КМ на всіх етапах лікування достовірно знижувалась, а через 2 роки вживання ІМ максимально наблизилась до відповідних значень в контрольній групі, але статистично достовірно відрізнялась і була підвищеною.

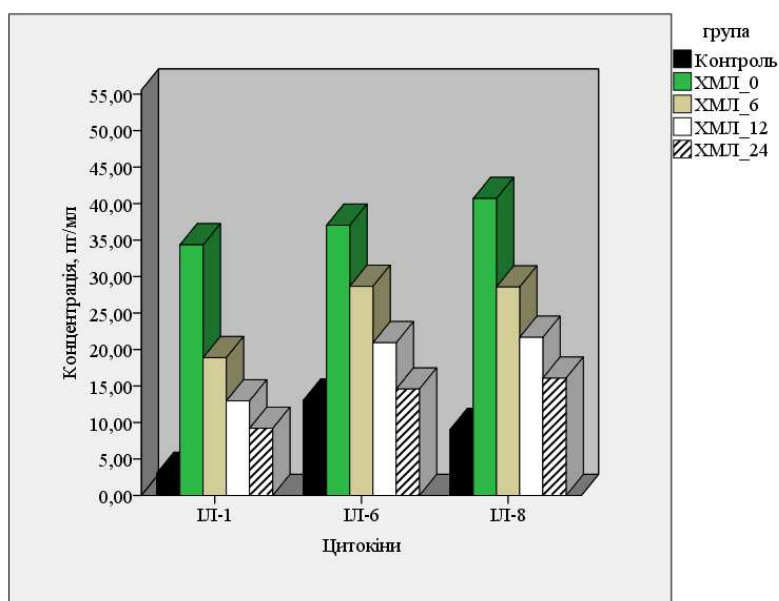


Рис. 1. Динаміка змін рівня основних прозапальних інтерлейкінів залежно від терміну лікування інгібітором тирозинкінази ІМ.

В основній групі вміст ІЛ-8 перевищував норму у 4,5 рази, при цьому його рівень корелював із вмістом трансформованих Рн+ клітин.

На першому етапі лікування (6 місяців) ми визначили достовірну різницю рівню продукції ІЛ-8, а вже з плином 12 місяців протипухлинної терапії встановлено зниження даного показника у 1,9 рази, і через 24 місяці лікування його рівень становив  $(15,4 \pm 4,46)$  пг/мл, що значно нижче такого  $(40,7 \pm 2,18)$  пг/мл в дебюті захворювання і достовірно вище  $(9,0 \pm 0,83)$  пг/мл в контрольній групі. Динамічне зниження прозапальних цитокі-

нів на всіх етапах лікування, ймовірно, свідчить про регресію запальної реакції та безпосередньо знижує ризик виникнення септичних ускладнень у хворих ХФ XML, які отримують препарат таргетної терапії ІМ.

Порівняльний аналіз дослідження рівнів внутрішньоклітинної продукції протизапальних цитокінів також показав позитивну динаміку зміни вмісту як ІЛ-10, так і ІЛ-4, їх концентрації у процесі лікування достовірно знижувались (рис. 2).

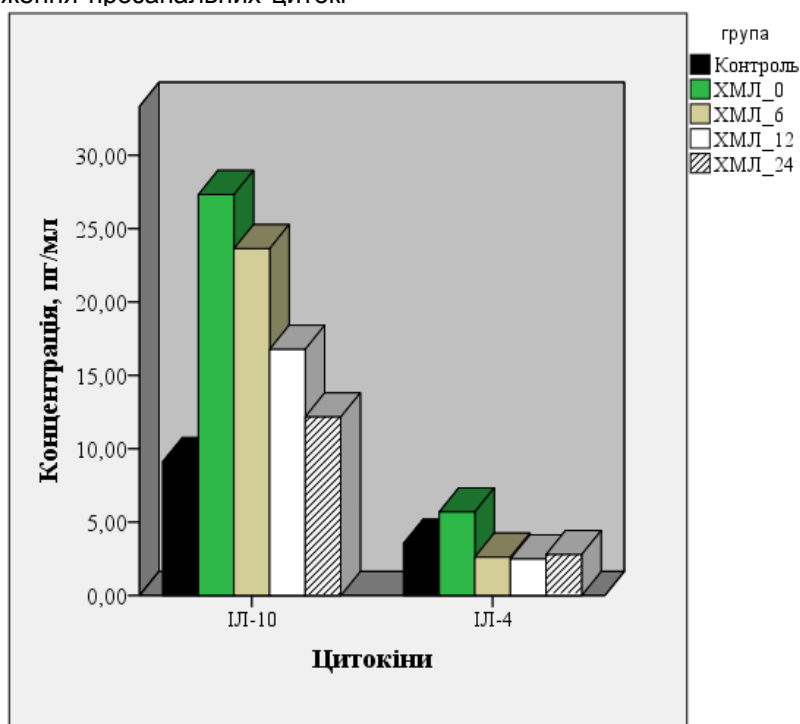


Рис. 2. Динаміка змін рівня протизапальних цитокінів залежно від терміну лікування інгібітором тирозинкінази ІМ.

Найбільш виражена зміна рівня ІЛ-10 визначена через 12 місяців терапії, а з плином 24 місяців лікування його вміст знизився у 2,2 рази порівняно із таким до лікування і за середньогруповим значенням становив  $(12,2 \pm 3,72)$  пг/мл, що наблизило даний показник до контрольного рівня  $(9,1 \pm 0,61)$  пг/мл, але з великим ступенем достовірності залишався підвищеним.

Поряд із цим відмічено значне пригнічення

продукції ІЛ-4, вже на першому етапі лікування його вміст знизився у 2,1 рази і не досягав рівнів контрольних значень. Така тенденція спостерігалась у продовж 12 – 24 місяців лікування.

Порівняльний аналіз динаміки секреції ІЛ-2 на фоні терапії ІМ показав, що концентрація ІЛ-2 в зразках сироватки ПК у хворих ХФ ХМЛ, впродовж всього терміну лікування стрімко зростала рис. 3.

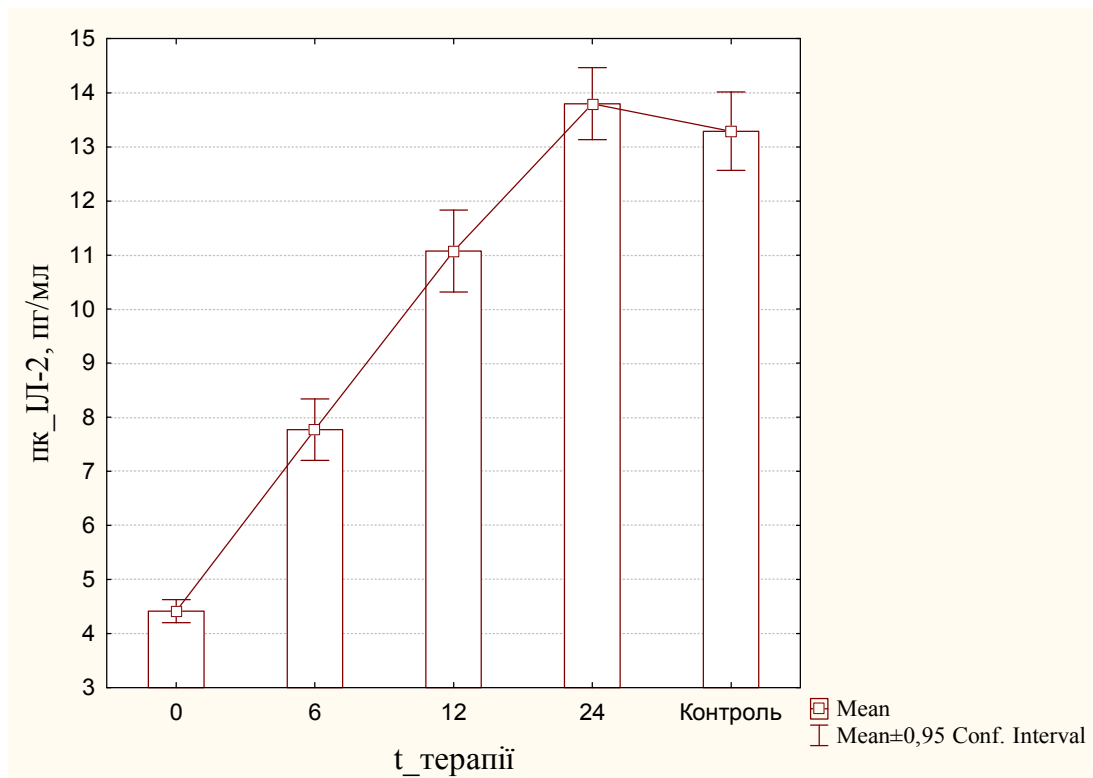


Рис. 3. Динаміка змін рівню ІЛ-2 залежно від терміну лікування інгібітором тирозинкінази ІМ.

Так, з плином 6 місяців лікування, вміст продукції ІЛ-2 у сироватці ПК достовірно збільшився у 1,75 рази порівняно із таким в дебюті захворювання, а вже через 24 місяці таргетної терапії концентрація ІЛ-2 перевищувала показники його спонтанного рівня у 3,11 разу та за середньогруповим значенням становила  $(13,7 \pm 2,39)$  пг/мл і досягла контрольного значення  $(13,3 \pm 2,41)$  пг/мл. Поряд із цим, на останньому етапі дослідження (24 місяці лікування) нормалізація секреції ІЛ-2 в межах (12 – 14) пг/мл визначена лише у 14 (26,9%) хворих ХФ ХМЛ, у 26 (49,9 %) осіб виявлено значно підвищений рівень ІЛ-2, а у решти (12 пацієнтів) (23,0%) встановлено зниження даного показника  $\leq 12$  пг/мл. Аналогічні зміни рівня ІЛ-2 виявлені також у сироватці КМ.

Зниження вмісту протизапальних цитокінів, властивих 2-му типу імунної відповіді, обумовленої Т-лімфоцитами –хелперами 2 типу (ТН2), у більшій мірі ІЛ-10, ймовірно, сприяє підвищенню секреції ІЛ-2, стимуляції продукції ФНП- $\alpha$  і ІНФ- $\gamma$  і, як наслідок, активації механізмів протипухлинної цитотоксичності. Доказом є встановлені кореляційні зв'язки вмісту ІЛ-10 та ІЛ-2,

ФНП- $\alpha$  і ІНФ- $\gamma$ . Так, з плином 24 місяців лікування, коефіцієнти кореляції Спірмена між рівнем протизапального ІЛ-10 та ІЛ-2 =  $-0,62$  та відповідно ФНП- $\alpha$  =  $-0,42$  і ІНФ- $\gamma$  =  $-0,57$ , при  $p < 0,05$ .

Рівень продукції ФНП- $\alpha$  і ІНФ- $\gamma$  у сироватці ПК та КМ на фоні терапії ІМ має таку ж тенденцію до відновлення, як і ІЛ-2, як це наведено на рис. 4.

Найбільш низький вміст ФНП- $\alpha$   $(1,3 \pm 0,23)$  пг/мл визначено у групі пацієнтів з ХМЛ, які не отримували попереднього лікування в порівнянні з хворими, які отримували таргетну терапію ІМ у продовж 6, 12 – 24 місяців  $((1,5 \pm 0,29), (1,8 \pm 0,28)$  та  $(2,9 \pm 0,57))$  пг/мл відповідно, а також контрольною групою здорових осіб  $(4,1 \pm 0,65)$  пг/мл. Встановлено достовірне підвищення середньогрупових значень ФНП- $\alpha$  на всіх етапах дослідження, проте з плином 24 місяців лікування, його рівень залишався значно зниженим порівняно з показниками контрольної групи ( $p < 0,001$ ).

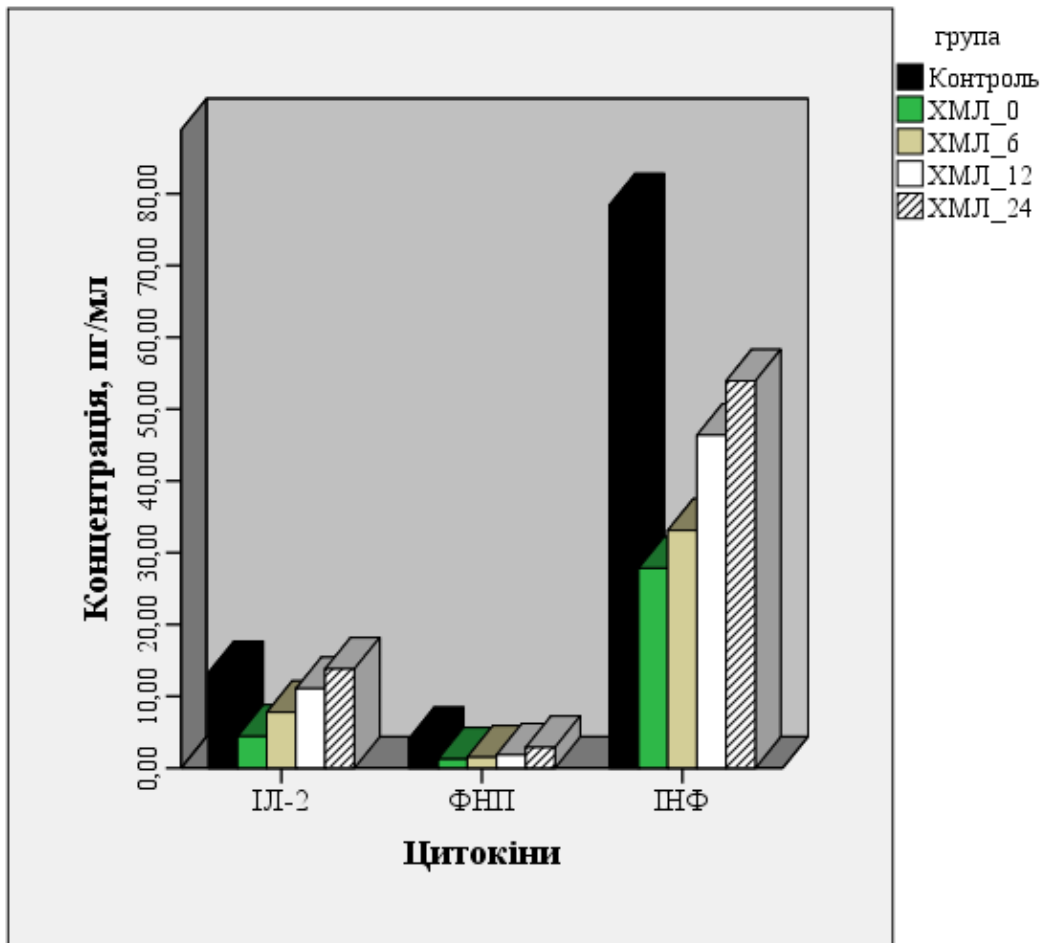


Рис. 4. Динаміка змін рівня ІЛ-2, ФНП-α і ІНФ-γ залежно від терміну лікування інгібітором тирозинкінази ІМ.

Лікування ІМ у пацієнтів з ХМЛ, також супроводжувалось достовірним підвищенням сироваткових рівнів ІНФ-γ. Так, через 6 місяців терапії його концентрація зростала до  $(33,1 \pm 7,40)$  пг/мл, а через 12 місяців - до  $(46,3 \pm 8,45)$  пг/мл, та з плином 24 місяців лікування становила  $(53,9 \pm 7,86)$  пг/мл, що майже у 2 рази вище у порівнянні із відповідними показниками основної групи (до лікування), але у 1,5 рази нижче від контрольних значень.

Тенденція до відновлення секреції сироваткових рівнів досліджених цитокінів, нормалізація вмісту ІЛ-2 та підвищення концентрацій ФНП-α і ІНФ-γ у хворих ХФ ХМЛ після терапії препаратами таргетної групи може бути проявом поступової нормалізації імунної реактивності, а завдяки тому, що ІНФ-γ, у більшій мірі ФНП-α, мають на-

правлену цитотоксичну дію на клітини пухлинного клону, а також імуномодуючу та протизапальну властивість, що призводить до активації макрофагів, нейтрофілів та ендотеліальних клітин, підвищення їх концентрацій ймовірно свідчить про активацію механізмів апоптозу/некрозу лейкоцитних клітин на фоні терапії.

Відновлення рівнів прозапальних та протизапальних цитокінів залежали від терміну лікування і у процесі терапії ІМ сприяли зменшенню ступеня цитокінового дисбалансу на всіх етапах лікування, про що свідчить підвищення балансу ІЛ-10/ІЛ-1β та ІЛ-10/ ІЛ-8, а також поступове зниження величини індексу ІЛ-10/ФНП-α (у 5,01 рази) та ІЛ-10/ІНФ-γ (у 4,4 рази) через 24 місяці лікування ІМ, табл. 3.

Таблиця 3  
Показники співвідношення протизапального ІЛ-10 до цитокінів запалення ІЛ-1β, ІЛ-6, ІЛ-8, ФНП-α та ІНФ-γ у сироватці периферійної крові хворих ХФ ХМЛ

Показник	Контроль (n=45)		До терапії* (n=52)	6 міс. (n=52)	12 міс. (n=52)	24 міс. (n=52)
	М	(Min–Max)	М	М	М	М
ІЛ-10/ ІЛ-1β	3,16	1,65 – 5,88	0,81 ↓	1,30	1,35	1,42 ↓
ІЛ-10/ ІЛ-6	0,75	0,48 – 1,25	0,74	0,83	0,82	0,84
ІЛ-10/ ІЛ-8	1,01	0,82 – 1,36	0,67 ↓	0,84	0,81	0,77 ↓
ІЛ-10/ ФНП-α	2,25	1,30 – 2,86	22,83 ↑	16,14 ↑	9,46 ↑	4,55 ↑
ІЛ-10/ ІНФ-γ	0,11	0,09 – 0,15	1,01 ↑	0,76 ↑	0,38 ↑	0,23 ↑

Примітка: \* — представлено результати балансу цитокінів до початку лікування ІМ.

Підтвердженням достовірності отриманих результатів є наявність сильної прямої кореляції між рівнем ІЛ-10 та індексом ІЛ-10/ ФНП- $\alpha$  ( $r_s = 0,90$ ,  $p < 0,001$ ) та ІЛ-10 та індексом ІЛ-10/ ІНФ- $\gamma$  ( $r_s = 0,86$ ,  $p < 0,001$ ), а також сильної зворотної кореляції між рівнем ФНП- $\alpha$  і ІНФ- $\gamma$  та індексом ІЛ-10/ ФНП- $\alpha$  і ІЛ-10/ ІНФ- $\gamma$  ( $r_s = -0,76$ ,  $p < 0,001$ ) відповідно.

Необхідно відмітити, що значення балансу ІЛ-10/ ІЛ-8, які у продовж 6 – 12 місяців лікування ІМ стабільно зростали та досягали нормальних значень, через 24 місяці терапії були зниженими порівняно із такими через 12 місяців лікування, що ймовірно є несприятливою ознакою.

Поряд із цим, незважаючи на суттєве зменшення ступеня цитокинового дисбалансу у процесі таргетної терапії ХФ ХМЛ, нормалізації індексів ІЛ-10/ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-10/ФНП- $\alpha$  та ІЛ-10/ІНФ- $\gamma$  з плином 24 місяців лікування ІМ не відбулось, ці показники не досягали нормальних значень. Показник балансу ІЛ-10/ІЛ-1 $\beta$  залишався суттєво зниженим, а значення ІЛ-10/ ФНП- $\alpha$  та ІЛ-10/ІНФ- $\gamma$  - помітно підвищеними.

Зміна продукції цитокинів залежала від вмісту лейкоцитів та наявності Rh+ пухлинного клону клітин. Так у процесі лікування ІМ спостерігали великої сили кореляційні залежності вмісту Rh+ клітин та рівнів про– та протизапальних цитокинів. Коефіцієнт Спірмена через 24 місяці лікування становив при  $p < 0,05$  для ІЛ-1 $\beta$  = 0,72 та відповідно ІЛ-6= 0,55; ІЛ-8 = 0,63; ІЛ-10 = 0,74; ІЛ-2 = – 0,79; ФНП- $\alpha$  = – 0,46; ІНФ- $\gamma$  = – 0,67. Для ІЛ-4 на даному етапі лікування не встановлено кореляційного зв'язку з кількістю Rh метафаз,  $r_s = 0,08$ ;  $p < 0,05$ .

У більшості пацієнтів на тлі лікування ІМ виявлено виражену позитивну динаміку змін показників цитокинового статусу. Статистично значущими були зміни вмісту як про– так і протизапальних цитокинів. Концентрація ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІЛ-8, а також ІЛ-4 та ІЛ-10 в сироватці ПК і КМ хворих на ХМЛ знижувалася. Лікування ІМ також призвело до підвищення рівнів ІЛ-2, ФНП- $\alpha$  та ІНФ- $\gamma$ . Виражена тенденція до відновлення цитокинової продукції сприяла зменшенню ступеню цитокинового дисбалансу, що підтверджується підвищенням балансу ІЛ-10/ ІЛ-1 $\beta$  та ІЛ-10/ ІЛ-8 та зниженням величини індексів ІЛ-10 / ФНП- $\alpha$  і ІЛ-10 / ІНФ- $\gamma$ .

Ефект дії ІМ на цитокиновий статус залежав від терміну лікування, його максимальна терапевтична дія, у нашому дослідженні, визначена з плином 24 місяців таргетної терапії, та незважаючи на суттєві позитивні зміни секреції цитокинів, концентрація основних прозапальних ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІЛ-8 та протизапального ІЛ-10 залишалась підвищеною, а вміст ФНП- $\alpha$  і ІНФ- $\gamma$  - зниженим відносно контрольних значень.

Зміни рівнів цитокинів, окрім ІЛ-4, корелюють з вмістом лейкоцитів та Rh + клітин, що свідчить про взаємозв'язок концентрацій досліджуваних цитокинів з масою пухлинної тканини, а поліп-

шення цитокинового статусу відбувається, ймовірно, за рахунок відновлення нормального гемопоезу у процесі лікування ІМ.

Підвищений спонтанний рівень прозапальних ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІЛ-8 та протизапальних ІЛ-4, ІЛ-10 і наступне виражене їх зниження, а також нормалізація секреції ІЛ-2 та підвищення рівнів ФНП- $\alpha$  та ІНФ- $\gamma$ , у хворих в ХФ ХМЛ, можливо, відображають зміну реактивності імунної відповіді в процесі лікування та сприяють переключенню домінуючого в дебюті захворювання гуморального – ТН-2 типу на клітинний, який обумовлюють Т-лімфоцити хелпери 1 типу – (ТН-1) тип, що слід вважати сприятливою ознакою, оскільки контроль за ростом і регресією пухлин здійснюють Т-лімфоцити, активуючи Т-клітинну цитотоксичність та інші механізми протипухлинного захисту.

Моніторинг рівнів про- та протизапальних цитокинів на різних етапах лікування може бути одним із методів спостереження направленості імунної відповіді, а також для прогнозу ризику розвитку імуносупресії та неспроможності протипухлинного імунітету.

### Висновки

1. Іматиніб в якості патогенетично направленої терапії ХФ ХМЛ призводить до поступової нормалізації секреції як прозапальних ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІЛ-8, так і протизапальних ІЛ-4, ІЛ-10 цитокинів, що полягає у зниженні їх концентрації у сироватці периферійної крові та кісткового мозку хворих на ХМЛ і сприяє зменшенню ступеня цитокинового дисбалансу.

2. Таргетна терапія ІМ сприяє відновленню рівня ІЛ-2 та стимуляції продукції ІНФ- $\gamma$  і, як наслідок, активації механізмів протипухлинної цитотоксичності. Максимальний терапевтичний ефект ІМ встановлено із плином 24 місяців лікування.

3. Після лікування ІМ в сироватці периферійної крові і кісткового мозку простежується зміна реактивності імунної відповіді, що, ймовірно, проявляється переключенням домінуючого в дебюті захворювання гуморального ТН-2 типу, на клітинний ТН-1 тип, що слід вважати сприятливою ознакою, так як контроль за ростом і регресією пухлин здійснюють передусім Т-лімфоцити.

4. Встановлено кореляційні залежності вмісту Rh + клітин та зміни рівнів цитокинів, що свідчить про взаємозв'язок концентрацій досліджуваних цитокинів з масою пухлинної тканини, а поліпшення цитокинового балансу відбувається, ймовірно, за рахунок відновлення нормального гемопоезу в процесі лікування ІМ.

### Перспективи подальших досліджень

Робота спрямована на поліпшення результатів лікування, профілактику та мінімізацію розвитку ускладнень патогенетичної терапії препаратами – інгібіторами тирозинкінази у хворих на

ХМЛ, а також визначення нових прогностичних показників щодо відповіді на таргетну терапію ХМЛ та прогнозування перебігу захворювання.

### Література

1. Бережная Н.М. Иммунология злокачественного роста / Н.М. Бережная, В.Ф. Чехун. - К. : Наукова думка, 2005. - 786 с.
2. Бережная Н.М. Семейства интерлейкинов: биология и онкогенез / Н.М. Бережная. - К. : Наукова думка, 2013. - 575 с.
3. Goldman J. M. How I treat chronic myeloid leukemia in the imatinib era / J. M. Goldman // *Blood*. - 2007. - Vol. 110. - P. 2828-2837.
4. Guarini A. Phenotypic and functional characterization of the host immune compartment of chronic myeloid leukemia patients in complete hematological remission / A. Guarini [et al.] // *Brit. J. Haematol.* - 2001. - Vol. 113. - P. 136-142.
5. Hehlmann R. On behalf of the European LeukemiaNet: Chronic myeloid leukemia / R. Hehlmann, A. Hochhaus, M. Baccarani // *Lancet*. - 2007. - Vol. 370. - P. 342-350.
6. Kantarjian H. M. New insights into the pathophysiology of chronic myeloid leukemia and imatinib resistance / H. M. Kantarjian [et al.] // *Ann Intern Med.* - 2006. - Vol. 145. - P. 913-923.
7. Kiani A. Normal intrinsic Th1/Th2 balance in patients with chronic phase chronic myeloid leukemia not treated with interferon-alpha or imatinib / A. Kiani [et al.] // *Haematologica*. - 2003. - Vol. 88. - P. 754-761.
8. Pawelek G. Cellular immune responses in autologous chronic myelogenous leukemia cells in vitro / G. Pawelek [et al.] // *Cancer Immunol. Immunother.* - 2005. - Vol. 42. - P. 433-435.
9. Reuben G. Restoration of Th1 cytokine synthesis by T-cells of patients with chronic myelogenous leukemia in cytogenetic and

hematologic remission with interferon-a / G. Reuben [et al.] // *Clin. Cancer Res.* - 2000. - Vol. 6. - P. 1671-1677.

### References

1. Berezhnaja N.M. Immunologija zlokachestvennogo rosta / N.M. Berezhnaja, V.F. Chehun. - K. : Naukova dumka, 2005. - 786 s.
2. Berezhnaja N.M. Semejstva interlejkinov: biologija i onkogenez / N.M. Berezhnaja. - K. : Naukova dumka, 2013. - 575 s.
3. Goldman J. M. How I treat chronic myeloid leukemia in the imatinib era / J. M. Goldman // *Blood*. - 2007. - Vol. 110. - P. 2828-2837.
4. Guarini A. Phenotypic and functional characterization of the host immune compartment of chronic myeloid leukemia patients in complete hematological remission / A. Guarini [et al.] // *Brit. J. Haematol.* - 2001. - Vol. 113. - P. 136-142.
5. Hehlmann R. On behalf of the European LeukemiaNet: Chronic myeloid leukemia / R. Hehlmann, A. Hochhaus, M. Baccarani // *Lancet*. - 2007. - Vol. 370. - P. 342-350.
6. Kantarjian H. M. New insights into the pathophysiology of chronic myeloid leukemia and imatinib resistance / H. M. Kantarjian [et al.] // *Ann Intern Med.* - 2006. - Vol. 145. - P. 913-923.
7. Kiani A. Normal intrinsic Th1/Th2 balance in patients with chronic phase chronic myeloid leukemia not treated with interferon-alpha or imatinib / A. Kiani [et al.] // *Haematologica*. - 2003. - Vol. 88. - P. 754-761.
8. Pawelek G. Cellular immune responses in autologous chronic myelogenous leukemia cells in vitro / G. Pawelek [et al.] // *Cancer Immunol. Immunother.* - 2005. - Vol. 42. - P. 433-435.
9. Reuben G. Restoration of Th1 cytokine synthesis by T-cells of patients with chronic myelogenous leukemia in cytogenetic and hematologic remission with interferon-a / G. Reuben [et al.] // *Clin. Cancer Res.* - 2000. - Vol. 6. - P. 1671-1677.

### Реферат

ИЗМЕНЕНИЯ СЕКРЕЦИИ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ И ПРОТИВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ПРОЦЕССЕ ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОЙ МИЕЛОИДНОЙ ЛЕЙКЕМИИ

Шляхтиченко Т.Ю., Дягиль И.С., Минченко Ж.Н., Дмитренко И.В., Федоренко В.Г., Дмитренко Е.А.

Ключевые слова: хроническая миелоидная лейкемия, цитокины, интерлейкины, иммунный ответ, таргетная терапия.

Нарушение баланса в системе цитокинов считается важным механизмом в развитии ХМЛ, поскольку в основе большинства онкогематологических заболеваний лежит опухолевый процесс, развивающийся из иммунокомпетентных клеток и их предшественников. Опухолевый рост вызывает нарушение в системе цитокинов, что проявляется дисбалансом их регуляции и продукции. Цитокины обладают способностью паракринно стимулировать рост неопластических клеток, активировать антиапоптотические факторы, нарушать регуляторные функции иммунной системы. Опухолевая трансформация гемопоэтических клеток также может быть связана с аутокринной продукцией в опухолевых клетках цитокинов, стимулирующих пролиферацию и экспрессию их рецепторов. Определение особенностей секреции иммунокомпетентными клетками провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в процессе таргетной терапии больных с ХМЛ позволяет расширить представления о значении иммунологической компоненты на формирование резистентности к терапии иматинибом и усовершенствовать спектр диагностических и прогностических критериев течения заболевания и эффективности лечения.

### Summary

CHANGES IN SECRETION OF PRO-INFLAMMATORY AND ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINES DURING TARGETED THERAPY OF CHRONIC MYELOID LEUKAEMIA

Shlyakhtychenko T.Y., Dyagil I.S., Minchenko J.N., Dmytrenko I.V., Fedorenko V.G., Dmytrenko E.A.

Key words: chronic myeloid leukaemia, cytokines, interleukins, immune response, targeted therapy.

The impairment of balance in cytokine system is considered to be an important mechanism in the development of chronic myeloid leukaemia (CML) as most timorous haematological processes are known to result from immunocompetent cells and their predecessors. Tumour growth leads to the violation in the functioning of cytokine system followed by the imbalance in their regulation and production. Cytokines are able to stimulate the growth of neoplastic cells by paracrine way, to activate anti-apoptotic factors, to impair the regulation of immune system functions. Tumour transformation of hematopoietic cells can also be related to autocrine production of cytokines in tumour cells that stimulates proliferation as well as the expression of their receptors. Determining the peculiarities of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines secretion by immunocompetent cells during the target therapy for CML patients can extend the understanding of the contribution of immune components in the formation of resistance to imatinib therapy and improve range of diagnostic and prognostic criteria of the disease and treatment effectiveness.