

УДК 616-092

Изучение влияния релиз-активных антител к интерферону-гамма на течение опухолевого процесса в экспериментальных моделях *in vivo*

Разина Т.Г.¹, Эртузун И.А.², Амосова Е.Н.¹, Крылова С.Г.¹, Зуева Е.П.¹, Тарасов С.А.³

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д.Гольдберга» Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук. 634028, Томск, пр. Ленина, д. 3

² ООО «НПФ Материя Медика Холдинг», 129272, Москва, ул. Трифоновская, д. 47, стр. 1

³ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии». 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

Интерферон-гамма (ИФН γ) играет важную роль в иммунных механизмах сдерживания опухолевого процесса, однако в определенных условиях может оказывать проопухолевое действие. Релиз-активные антитела (РА АТ) к ИФН γ изменяют конформацию молекулы этого цитокина, облегчают его связывание с рецептором и усиливают продукцию эндогенного ИФН γ . Цель настоящего исследования состояла в изучении влияния РА АТ к ИФН γ на имеющийся опухолевый процесс на моделях меланомы и карциносаркомы. **Методика.** Было изучено влияние препарата на течение опухолевого процесса в моделях меланомы В-16 у мышей и карциносаркомы Уокера 256 у крыс. **Результаты.** У мышей с меланомой В-16, чувствительной к ИФН γ , тестируемый препарат не стимулировал рост и метастазирование опухоли. В модели карциносаркомы Уокера 256 у крыс РА АТ к ИФН γ также не влияли на размер опухоли, однако значительно ингибировали гематогенное метастазирование. **Заключение.** В настоящем исследовании не было выявлено стимулирования опухолевого процесса и метастазирования препаратом РА АТ к ИФН γ .

Ключевые слова: релиз-активность; антитела; интерферон-гамма; канцерогенность; меланома В-16; карциносаркома Уокера 256.

Для цитирования: Разина Т.Г., Эртузун И.А., Амосова Е.Н., Крылова С.Г., Зуева Е.П., Тарасов С.А. Изучение влияния релиз-активных антител к интерферону-гамма на течение опухолевого процесса в экспериментальных моделях *in vivo*. Патогенез. 2018; 16(3): 132–134

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.03.132-134

Для корреспонденции: Эртузун Ирина Анатольевна, e-mail: heifezia@materiamedica.ru

Финансирование. Исследование не имеет спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 22.08.2018

Effect of release-active anti-interferon-gamma antibodies on the course of the tumor process in *in vivo* experimental models

Razina T.G.¹, Ertuzun I.A.², Amosova E.N.¹, Krylova S.G.¹, Zueva E.P.¹, Tarasov S.A.³

¹ E.D. Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine of the Tomsk National Research Medical Centre of the Russian Academy of Sciences, Prospekt Lenina 3, Tomsk 634028, Russian Federation

² LLC NPF Materia Medica Holding, Trifonovskaya Str. 47, Bldg. 1, Moscow 129272, Russian Federation

³ Institute of General Pathology and Pathophysiology, Baltijskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

Interferon-gamma (IFN γ) plays an important role in antitumor immunity; however, in some circumstances, it may also favor tumor immune evasion. Released-active (RA) anti-IFN γ antibodies (Abs) are able to induce conformational changes in the IFN γ molecule and to facilitate its receptor binding, which results in enhanced production of this cytokine. **The aim** of the present study was to evaluate the effect of RA anti-IFN γ Abs on the tumor growth in models of melanoma and carcinosarcoma. **Methods.** The ability of anti-IFN γ RA Abs to influence the tumor growth was evaluated in the models of melanoma B16 in mice and Walker 256 carcinosarcoma in rats. **Results.** The exposure of mice with IFN γ -sensitive melanoma B16 to the tested drug did not result in stimulation of tumor growth and metastasis. RA anti-IFN γ Abs also did not affect the tumor size in the rat model of Walker 256 carcinosarcoma but significantly inhibited the hematogenous metastasis. **Conclusion.** In the present study, no stimulation of the tumor process and metastasis by RA anti-IFN γ Abs were found.

Key words: released-activity; antibodies; interferon-gamma; tumorigenic potential; melanoma B16; Walker 256 carcinosarcoma.

For citation: Razina T.G., Ertuzun I.A., Amosova E.N., Krylova S.G., Zueva E.P., Tarasov S.A. [Effect of release-active anti-interferon-gamma antibodies on the course of the tumor process in *in vivo* experimental mod-

Введение

Ранее было показано, что релиз-активные антитела (РА АТ) к интерферону-гамма (ИФН γ) способны вызывать конформационные изменения в молекуле ИФН γ , усиливая связывание цитокина с его рецепторами, что приводит к увеличению продукции ИФН γ и к активации сопряженных с ним процессов [1, 2].

Имеются неоспоримые доказательства эффективности использования ИФН γ для ингибирования роста ряда опухолей, что обусловило его применение в качестве иммунотерапии при комплексном лечении нескольких видов рака [3, 4]. Чувствительность раковых клеток к ИФН γ является критично важной для того, чтобы иммунная система организма была способна сдерживать развитие опухоли, поэтому дефекты экспрессии ИФН γ -рецепторов или их отсутствие позволяют злокачественным клеткам избежать иммунного ответа. Влияние РА АТ к ИФН γ на конформацию ИФН γ , лиганд-рецепторные взаимодействия и продукцию этого цитокина указывает на важность оценки про- и противоопухолевого эффекта этого препарата. *Целью настоящего исследования* являлось изучение влияния РА АТ к ИФН γ на уже имеющийся опухолевый процесс на моделях меланомы В-16 и карциносаркомы Уокера 256.

Материалы и методы исследования

Исследования проводили на мышах-самках С57В1/6 (18–22 г) и на беспородных крысах-самках (290–360 г), полученных из отдела экспериментальных биологических моделей НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга. Мышам перевивали меланому В-16 (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России) внутримышечно в дозе 1×10^6 клеток в 0,1 мл физиологического раствора на мышь. Крысам перевивали карциносаркому Уокера 256 (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России) в виде 20% взвеси клеток в 0,2 мл физиологического раствора под кожу спины. РА АТ к ИФН γ ($n = 12$ — мыши; $n = 8$ — крысы) или дистиллированную воду ($n = 12$ — мыши, $n = 10$ — крысы, контроль) вводили мышам с 11 по 24 день, а крысам — с 5 по 24 день после трансплантации опухоли в дозе 0,3 мл/мышь и 0,5 мл/крысу внутривенно, на 18-е сутки мыши и на 13-е сутки крысы этих групп получали инъекцию физиологического раствора. Положительный контроль циклофосфан ($n = 12$ — мыши, $n = 9$ — крысы) вводили однократно внутривенно на 18-е сутки мышам и на 13-е сутки крысам после трансплантации опухоли в дозе 125 мг/кг (мыши) и 40 мг/кг (крысы), с 11 по 24 сутки мыши и с 5 по 24 сутки крысы этой группы получали внутривенно дистиллированную воду в объеме 0,3 мл/мышь и 0,5 мл/крысу. На 25 день мышей и крыс подвергали эв-

таназии и оценивали у них массу опухолевого узла, а также количество и площадь метастазов.

Содержание и обращение с животными

Содержание животных и дизайн экспериментов соответствовали директиве 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях; Приказу МЗ РФ от 1 августа 2016 N 199н. Животных содержали в неполной барьерной системе при следующих параметрах окружающей среды: в помещении с естественным освещением, контролируемой температурой (20–26°C) и влажностью воздуха (не более 50%), объем воздухообмена (вытяжка/приток) — 8:10, световой режим (день/ночь) — 1:1. Кормление животных — дважды в день, доступ к воде и пище — *ad libitum*. Эвтаназию мышей осуществляли методом дислокации шейных позвонков под легким эфирным наркозом, крыс — передозировкой эфира.

Статистический анализ

Статистический анализ проведен в программе RStudio (Version 1.1.419 — © 2009–2018 RStudio, Inc.) с помощью пакета R версии 3.5.1. Сравнение групп произведено однократным дисперсионным анализом с поправкой Тьюки и предварительным ранжированием зависимой переменной (при ненормальности распределения или гетероскедастичности) или непараметрическим тестом Краскела–Уоллиса. Сравнение количества и площади метастазов проведено с использованием обобщенной регрессионной модели. Статистически значимые отличия при $p < 0,05$.

Результаты исследования

На 25-й день после перевивки карциносаркомы Уокера 256 наблюдался выраженный опухолевый процесс с метастазированием как в лимфатические узлы (частота — 60%), так и гематогенно в лёгкие (частота — 70%). Введение РА АТ к ИФН γ не влияло на массу опухоли, а циклофосфан снижал ее в 13,4 раза, $p < 0,05$. Однако РА АТ к ИФН γ эффективно ингибировали гематогенное метастазирование: количество животных с метастазами снижалось в 1,9 раза ($p < 0,05$), количество метастазов в легких — в 11,9 раза ($p < 0,05$), а площадь метастазов — в 3,9 раза ($p < 0,05$). Кроме того, была обнаружена тенденция к уменьшению подмышечных лимфоузлов (1,7–2,9 раза относительно показателей массы подмышечных лимфоузлов нелеченых животных).

Введение РА АТ к ИФН γ мышам с меланомой В-16 не оказывало влияния ни на размер опухоли, ни на ее метастазирование. Циклофосфан снижал массу опухоли (на

30%, $p < 0,05$), количество и площадь метастазов (в 2,7 и в 4,3 раза соответственно, $p > 0,05$). Доля мышей с метастазами составляла 58% в контроле и группе РА АТ к ИФН γ и 42% в группе циклофосфана.

Обсуждение

В исследовании было показано отсутствие влияния РА АТ к ИФН γ на развитие опухолевого процесса у мышей с меланомой В-16, что является важным свидетельством в пользу отсутствия проопухолевого и прометастатического потенциала. РА АТ к ИФН γ не стимулируют развитие опухолевого процесса и при карциносаркоме Уокера 256 у крыс. Более того, в этой модели было обнаружено подавление метастазирования при введении тестируемого препарата. Ингибирование метастазирования при введении РА АТ к ИФН γ может свидетельствовать об активации иммунного ответа на опухоль и усилении сдерживающих распространение опухоли иммунных механизмов через повышение активности ИФН γ и его сигнальных путей [5]. Это согласуется с полученными ранее данными об иммуностропном действии РА АТ к ИФН γ [2], а также эффективности препарата при широком спектре инфекций, обусловленной усилением неспецифического иммунного ответа и индукцией ИФН γ [6].

Заключение

В настоящем исследовании не было выявлено стимулирования опухолевого процесса и метастазирования у мышей (меланома В-16) и крыс (карциносаркома Уокера 256).

Список литературы

1. Эпштейн О.И. *Релиз-активность (современный взгляд на го-меопатию и негомеопатию)*. М.: Издательство РАМН; 2017. 48 с.

2. Жавберт Е.С., Дугина Ю.Л., Эпштейн О.И. Иммуностропные свойства анаферона и анаферона детского. *Антибиотики и химиотерапия*. 2013; 58(5-6): 17-23.

3. Bekisz J., Sato Y., Johnson C., Husain S.R., Puri R.K., Zoon K.C. Immunomodulatory effects of interferons in malignancies. *J. Interferon Cytokine Res.* 2013; 33(4): 154-161. DOI: 10.1089/jir.2012.0167

4. Kim K.S., Choi K.J., Bae S. Interferon-gamma enhances radiation-induced cell death via downregulation of Chk1. *Cancer Biol. Ther.* 2012; 13(11): 1018-1025. DOI: 10.4161/cbt.20990

5. Castro F., Cardoso A.P., Goncalves R.M., Serre K., Oliveira M.J. Interferon-Gamma at the Crossroads of Tumor Immune Surveillance or Evasion. *Front. Immunol.* 2018; 9: 847. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00847

6. Tarasov S.A., Kachanova M.V., Gorbunov E.A., Zabolotneva J.A., Ertuzun I.A., Belopolskaya M.V., Borodavkina M.V., Dugina J.L., Epstein O.I. Анаферон, released-active from of antibodies to interferon-gamma, as an effective medicine for treatment and prophylaxis of a wide spectrum of infections. *Clin. Res. Trials.* 2016; 2(5): 229-232. DOI: 10.15761/CRT.1000152

References

1. Epstein O.I. [*Released activity (current view on homeopathy and non-homeopathy)*]. Moscow: Publishing Office of the Russian Academy of Medical Sciences; 2017. 48 p. (in Russian).

2. Zhavbert E.S., Dugina Ju.L., Ypshtein O.I. [Immunotropic properties of anaferon and anaferon pediatric]. *Antibiotiki i himioterapiya [Antibiotics and Chemotherapy]*. 2013; 58(5-6): 17-23. (in Russian)

3. Bekisz J., Sato Y., Johnson C., Husain S.R., Puri R.K., Zoon K.C. Immunomodulatory effects of interferons in malignancies. *J. Interferon Cytokine Res.* 2013; 33(4): 154-161. DOI: 10.1089/jir.2012.0167

4. Kim K.S., Choi K.J., Bae S. Interferon-gamma enhances radiation-induced cell death via downregulation of Chk1. *Cancer Biol. Ther.* 2012; 13(11): 1018-1025. DOI: 10.4161/cbt.20990

5. Castro F., Cardoso A.P., Goncalves R.M., Serre K., Oliveira M.J. Interferon-Gamma at the Crossroads of Tumor Immune Surveillance or Evasion. *Front. Immunol.* 2018; 9: 847. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00847

6. Tarasov S.A., Kachanova M.V., Gorbunov E.A., Zabolotneva J.A., Ertuzun I.A., Belopolskaya M.V., Borodavkina M.V., Dugina J.L., Epstein O.I. Анаферон, released-active from of antibodies to interferon-gamma, as an effective medicine for treatment and prophylaxis of a wide spectrum of infections. *Clin. Res. Trials.* 2016; 2(5): 229-232. DOI: 10.15761/CRT.1000152

Сведения об авторах:

Разина Татьяна Георгиевна — доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории онкофармакологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д.Гольдберга» Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук

Эртузун Ирина Анатольевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник научно-аналитического отдела ООО «НПФ Материя Медика Холдинг»

Амосова Евдокия Наумовна — доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории онкофармакологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д.Гольдберга» Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук

Крылова Светлана Геннадьевна — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории онкофармакологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д.Гольдберга» Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук

Зуева Елена Петровна — доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией онкофармакологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д.Гольдберга» Томского национально-исследовательского медицинского центра Российской академии наук

Тарасов Сергей Александрович — кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологически активных веществ Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»