

І.М. Восійкова,
Н.Л. Черемшенко,
О.М. Караман,
А.В. Чумак,
Т.В. Симчич,
Н.І. Федосова

Інститут експериментальної
патології, онкології і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького НАН України,
Київ, Україна

Ключові слова: аденокарцинома Ерліха, карцинома легені Льюїс, лектин, цисплатин, протипухлинна активність, антиметастатична активність

ЕФЕКТИВНІСТЬ КОМБІНОВАНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ЗАСОБІВ ІМУНОТА ХІМІОТЕРАПІЇ ПРИ РІЗНИХ ЗА МЕТАСТАТИЧНИМ ПОТЕНЦІАЛОМ ПУХЛИНАХ

Мета: оцінити ефективність комбінованого застосування засобів імунотерапії при різних за метастатичним потенціалом пухлинах. **Об'єкт і методи:** в роботі використані 2 експериментальні моделі: аденокарцинома Ерліха (АКЕ) та карцинома легені Льюїс (КЛЛ). В якості засобу хіміотерапії використовували цисплатин, засобу біотерапії — лектин *B. subtilis* IMB B-7724, який в низьких концентраціях володіє імуностимулюючою активністю. Тваринам різних груп препарати вводили в монорежимі або комбіновано. Оцінювали стандартні показники пухлинного росту та метастазування. По завершенні лікування оцінювали показники активності ефекторів неспецифічного імунітету. Статистичну обробку результатів проводили за загальноприйнятими методами варіаційної статистики. **Результати:** на обох моделях пухлинного росту продемонстрована протипухлинна та антиметастатична ефективність застосування в якості засобу імунотерапії лектину *B. subtilis* IMB B-7724. Вираженість ефекту залежала від режиму його введення (монорежим, комбінація з хіміотерапією) та модельної пухлини: для мишей з АКЕ більш ефективним було введення лектину в монорежимі (індекс гальмування росту пухлин, ІГРП = 53,2%); з КЛЛ — комбіноване введення лектину та цисплатину (ІГРП = 46,5%, індекс інгібіції метастазування, ІІМ = 78,6%). Продемонстрований ефект в обох випадках пов'язаний зі здатністю лектину ремодулювати та підтримувати протягом тривалого часу на тлі росту пухлини поляризацію макрофагів в напрямку прозапального стану M1 (збільшення продукції NO на тлі зниження активності аргінази (Arg)). **Висновок:** протипухлинна та антиметастатична ефективність різних схем застосування засобів хіміо-/імунотерапії обумовлена активацією неспецифічної імунної відповіді та залежить як від імуногенних характеристик пухлин, так і від вихідних фізіологічних особливостей імунної системи.

Розробка методів посилення ефективності терапії хворих зі злоякісним пухлинним процесом є актуальною проблемою сучасності як з точки зору фундаментальної науки, так і з соціально-економічної складової розвитку країни. Підвищення успішності лікування хворих на рак обумовлює пошук нових засобів, які підвищують протипухлинну резистентність організму.

Загальновідомо, що специфічне протипухлинне лікування, як цитостатичне, так і хірургічне, призводить не тільки до знищення пухлинних клітин, але і до модуляції функціонування імунної системи. Засоби традиційної цитотоксичної хіміотерапії, метою дії яких є безпосереднє знищення пухлинних клітин, головним чином, призводять до розвитку імуносупресії. Остання пов'язана з формуванням резистентності до ліків і часто відповідає за метастазування або рецидив росту пухлини після короткого періоду ремісії. Однак деякі

цитотоксичні хіміотерапевтичні препарати можуть вбивати пухлинні клітини імуногенним шляхом, за рахунок активації вроджених та адаптивних протипухлинних імунних реакцій та складають потенціал для значного підвищення ефективності терапії [1].

Порушення функціонування імунної системи може бути однією з причин зниження ефективності цитостатичних препаратів. Роль імунної системи у формуванні ефективної відповіді пацієнта на проведення хіміотерапії підтверджують результати як експериментальних досліджень [2], так і клінічних спостережень [3, 4]. Більш ефективним цитостатичне лікування є за умови збереження реактивної імунної системи. Вклад в забезпечення терапевтичної ефективності вносять механізми специфічного і адаптивного імунітету. Зокрема, у дослідженнях *in vivo*, присвячених оцінці ефективності хіміотерапії антрациклінами

імунокомпетентних та імунодефіцитних мишей з експериментальними пухлинами, продемонстровано, що реакція на лікування є оптимальною лише за наявності неушкодженої імунної системи та супроводжується атракцією до пухлинного вогнища значної кількості міелоїдних та лімфоїдних клітин [5]. На користь цього положення також свідчать і клінічні дані. Показано, що пацієнти зі злужасними новоутвореннями, які мають в анамнезі набутий синдром імунодефіциту (відповідно дефектну імунну відповідь за рахунок ураження вірусом CD4⁺ лімфоцитів-хелперів), виявились резистентними до лікування цитостатиками, особливо за умови їх комбінації з антиретровірусною терапією [4].

Останнім часом ініційовано велику кількість клінічних досліджень, які залучають агенти, що індукують імуногенну загибель пухлинних клітин. Основну увагу звертають на можливість підвищення ефективності лікування шляхом комбінації конвенційних, таргетних препаратів та імунотерапевтичних підходів. Незважаючи на те, що в клінічній практиці ними переважно нехтують, накопичені експериментальні та клінічні дані вказують, що ефективність звичайних і таргетних протипухлинних препаратів включає не лише прямі цитостатичні/цитотоксичні ефекти, але також залежить від модуляції протипухлинної імунної відповіді. Хіміотерапія може сприяти підвищенню імуногенності злужасних клітин, пригніченню імуносупресивних процесів, які виникають під час розвитку новоутворень. Ці імунологічні “побічні” ефекти хіміотерапії є бажаними, а їх глибоке розуміння полегшить розробку нових комбінаторних схем із покращеною клінічною ефективністю. Імуномодулюючий ефект хіміотерапії може бути обумовлений модифікацією антигенних властивостей пухлинних клітин, яка індукує відповідь імунної системи на пухлину; підсиленням функціональної активності ефекторів імунної системи, які мають протипухлинну активність; системним впливом протипухлинного лікування. Здатність викликати імуногенну загибель пухлинних клітин доведена для таких хіміотерапевтичних препаратів, як циклофосфамід, доксорубіцин, епірубіцин, ідарубіцин, мітоксантрон та оксаліплатин [6, 7].

Проте, цитостатичні препарати, які не володіють прямими імуногенними властивостями (наприклад цисплатин, етопозид), також можуть сприяти підсиленню протипухлинної імунної відповіді за рахунок видалення клітин з імуносупресорною активністю (Т-регуляторні лімфоцити (*regulatory T cells*, Treg), міелоїдні супресорні клітини (*myeloid-derived suppressor cells*, MDSC), макрофаги (Мф) M2). Зокрема продемонстровано, що за рахунок зменшення кількості MDSC внаслідок дії цисплатину, відбувається відновлення функцій основних клітин-ефекторів протипухлинного іму-

нітету та, відповідно, підсилення цитотоксичної активності останніх по відношенню до пухлинних клітин [8, 9].

Наведені вище дані ілюструють терапевтичну доцільність “імуногенної хіміотерапії”; тобто програму хіміотерапії, спрямовану на стимулювання протипухлинної імунної відповіді як виправданого побічного ефекту терапії. Крім того, можна поєднати агенти, які викликають прямі цитотоксичні, специфічні для пухлинних клітин, та імуностимулюючі ефекти для досягнення оптимального терапевтичного результату. Одним із підходів до вирішення цієї проблеми є поєднання хіміо- та імунотерапії при лікуванні пацієнтів зі злужасними новоутвореннями.

Виходячи з викладеного, **метою нашого експериментального дослідження** стала оцінка ефективності комбінованого застосування засобів імуно- та хіміотерапії при різних за метастатичним потенціалом пухлинах.

ОБ’ЄКТ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проведені на мишах ліній C57Bl/6J (самці, $n=20$) та Balb/c (самки, $n=20$), які були одержані з розплідника віварію Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології (ІЕПОР) ім. Р.Є. Кавецького НАН України. Вік тварин складав 2,0–2,5 міс., маса — 19,0–22,0 г. Тварини перебували у стандартних умовах віварію з природним режимом освітлення на повноцінному раціоні харчування. Утримання мишей та робота з ними здійснювались відповідно до стандартних міжнародних правил з біологічної етики та Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях [10].

Моделі пухлинного росту. У роботі використані 2 експериментальні моделі: аденокарцинома Ерліха (АКЕ) та карцинома легені Льюїс (КЛЛ). Пухлинні клітини обох штамів одержували з Банку клітинних ліній з тканин людини та тварин ІЕПОР ім. Р.Є. Кавецького НАН України.

Карцинома легені Льюїс виникла спонтанно як карцинома легені у миші лінії C57Bl/6J у 1951 р. Метастазує гематогенно у легені практично у 100% випадків [11]. Для перещеплення пухлин, клітини КЛЛ вводили мишам лінії C57Bl/6J внутрішньом’язево у стегно у кількості 4×10^5 клітин/мишу.

Аденокарцинома Ерліха виникла спонтанно у миші-самці у 1905 р. як аденокарцинома молочної залози [12]. За звичайних умов пухлина не метастазує. Для перещеплення пухлин клітини АКЕ вводили мишам лінії Balb/c внутрішньом’язево у стегно у кількості 5×10^5 клітин/мишу.

Схеми експерименту. Схеми проведення експерименту були аналогічними для обох моделей пухлинного росту. При лікуванні мишей з пухли-

нами в якості засобу хіміотерапії використовували цисплатин (Ebewe, Австрія), біотерапії — лектин *B. subtilis* IMB B-7724, який в низьких концентраціях володіє імуностимулюючою активністю [13]. Експериментальних тварин розділяли на 5 груп по п'ять у кожній групі: “Контроль пухлинного росту (КПР)” — миші з пухлинами, яким вводили 0,9% розчин NaCl; “Цисплатин” — миші з пухлинами, яким, починаючи з 2-ї доби після трансплантації пухлинних клітин, вводили цисплатин (щоденно, внутрішньочеревно, 5 введень по 0,0125 мг/мишу); “Лектин” — миші з пухлинами, яким, починаючи з 8-ї доби після трансплантації пухлинних клітин, вводили лектин *B. subtilis* IMB B-7724 (через день, підшкірно, 10 введень по 0,02 мг/мишу); “Цисплатин + лектин” — миші з пухлинами, яким за описаними вище схемами послідовно вводили цисплатин (5-разово, починаючи з 2-ї доби) та лектин (10-разово, починаючи з 8-ї доби); “Інтактний контроль (ІК)” — інтактні миші відповідних лінії, віку та статі.

Перебіг пухлинного процесу характеризували за стандартними показниками (об'єм пухлин (мм³), кількість (*n*) та об'єм (мм³) легеневих метастазів). Для оцінки протипухлинного ефекту розраховували індекс гальмування росту пухлини (ІГРП, %), антиметастатичного — індекс інгібування метастазування (ІМ, %), як описано в [14].

На 28-му добу пухлинного процесу (повністю завершений курс лікування) тварин виводили з експерименту і оцінювали показники функціонального стану перитонеальних Мф за продукцією NO та активністю аргінази (Arg); цитотоксичну активність (ЦТА) Мф та природних кілерних клітин (ПКК); визначали рівні цитокінів (ІФН-γ, ІЛ-4) у сироватці крові. Для порівняння тварин дослідних і контрольних груп та оцінки напрямку змін отриманих показників розраховували індекси модуляції (ІМ, %):

$$ІМ = ((X_d - X_k) / X_k) \times 100,$$

де X_d — показник дослідної групи, X_k — показник контрольної групи.

Всі дослідження проводили за загальноприйнятими методиками, які детально описані раніше [15, 16].

Статистичну обробку результатів проводили за загальноприйнятими методами варіаційної статистики з використанням GraphPad Prism 8.0.1 (Graphpad Software Inc., США). Вірогідність різниці між контрольними та дослідними групами оцінювали за *t*-критерієм Стьюдента. Вірогідною вважали різницю між порівнюваними показниками при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати оцінки протипухлинного та антиметастатичного ефектів лектину *B. subtilis* IMB

B-7724 за умови його використання у монорежимі або у комбінації з цисплатином представлені у *табл. 1*. Як видно з наведених даних, вираженість ефекту у тварин з різними модельними пухлинами залежала від режиму введення препаратів імунотерапії (монорежим, комбіноване застосування).

Таблиця 1

Протипухлинний та антиметастатичний ефект різних режимів застосування лектину та цисплатину

Показник	Лектин	Цисплатин	Цисплатин + лектин
ІГРП АKE, %	53,2 ± 1,6	19,1 ± 2,3 ¹	22,1 ± 2,1 ¹
ІГРП КЛЛ, %	24,3 ± 3,1	34,0 ± 2,6	46,5 ± 1,5 ^{1,2}
ІМ КЛЛ, %	46,0 ± 1,3	35,6 ± 1,6	78,6 ± 2,4 ^{1,2}

Примітки: 1 — $p < 0,05$ порівняно з показником групи “Лектин”; 2 — $p < 0,05$ порівняно з показником групи “Цисплатин”

У мишей з АKE найбільш ефективним виявилось введення лектину в монорежимі: ІГРП у цій групі тварин складав 53,2%. При комбінованому застосуванні лектину і цисплатину суттєвого протипухлинного ефекту не відмічали. Ріст пухлин у тварин цієї групи був більш повільним, ніж у нелікованих мишей групи “КПР”, проте ІГРП становив лише 22,1% (див. *табл. 1*). Отримані результати свідчать про більш виражену протипухлинну ефективність лектину *B. subtilis* IMB B-7724 за умови його застосування у монорежимі на цій моделі пухлинного росту.

На моделі КЛЛ ми отримали дещо інші результати. У групах тварин, яким вводили лектин та цисплатин у монорежимі, гальмування росту пухлин порівняно з нелікованими мишами було незначним (див. *табл. 1*). Суттєвих відмінностей у динаміці росту пухлин між тваринами, для лікування яких застосовували лише імунотерапію, також не спостерігали. Найбільш виражений протипухлинний ефект був отриманий при комбінованому застосуванні лектину і цисплатину (ІГРП = 46,5%). Але на цій моделі пухлинного росту був продемонстрований суттєвий антиметастатичний ефект. Оцінка кількості і об'єму метастазів у легенях контрольних і дослідних мишей та розрахунок ІМ підтвердили більшу ефективність комбінованої схеми лікування. Хоча метастази виникали у всіх тварин з пухлинами, їх кількість і розмір були значно меншими порівняно як з показниками мишей групи “КПР”, так і пролікованих у монорежимі лектином (в 1,7 раза, $p < 0,05$) або цисплатином (у 2,2 раза, $p < 0,05$). Тобто, у мишей з КЛЛ більш виражений протипухлинний та суттєвий антиметастатичний ефекти продемонстровані за умови комбінованого застосування препаратів хіміо- та імунотерапії.

З метою пояснення можливих причин таких ефектів було проведено імунологічне дослідження,

яке включало оцінку змін функціональних властивостей та активності ефektorів неспецифічного імунітету (Мф та ПКК) після завершення повного курсу лікування.

Захисна функція Мф у реалізації відповіді організму на розвиток ряду патологічних процесів широко відома. Проте, при оцінці ролі цих клітин у формуванні протипухлинного імунітету потрібно брати до уваги їх здатність змінювати напрямки поляризації залежно від отриманих сигналів мікрооточення: Мф М1 мають потужну цитотоксичну активність та сприяють знищенню пухлинних клітин; Мф М2 виконують пропухлинну функцію і можуть сприяти прогресуванню пухлинного процесу. Оцінити зміни напрямку поляризації Мф дозволяє визначення особливостей катаболізму L-аргініну (рівень NO, активність Arg), розрахунок співвідношення NO/Arg та їх ЦТА по відношенню до пухлинних клітин. Враховуючи таку властивість Мф, як пластичність, тобто здатність під впливом сигналів мікрооточення поляризуватись в напрямках $M1 \leftrightarrow M2$, перспективним може виявитись застосування методів імунотерапії з метою реполяризації імуносупресорних пропухлинних Мф М2 [17].

Крім того Мф складають значну частину популяції імуніцитів, які регулюють взаємодію пухлинних клітин з мікрооточенням протягом усіх етапів розвитку пухлини. За рахунок продукції ряду цитокінів Мф здатні посилювати або пригнічувати активність клітин-ефektorів як неспецифічного (ПКК), так і специфічного (Т-хелпери, цитотоксичні Т-лімфоцити) імунітету. Тому в наше дослідження була включена оцінка активності ПКК, а також визначення рівнів у сироватці крові імунорегуляторних цитокінів — ІФН- γ та ІЛ-4.

На рис. представлені всі зазначені вище показники активності ефektorів природної резистентності тварин з пухлинами (нелікованих і пролікованих за різними схемами) у вигляді ІМ по

відношенню до відповідних параметрів інтактних мишей. Використання ІМ дозволяє продемонструвати не лише кількісний ступінь різниці між показниками, а й її спрямованість (більше або менше за середній показник контрольної групи). Як видно з рисунку, не залежно від моделі пухлинного росту для мишей груп “КПР”, які не отримували лікування, характерне суттєве пригнічення активності Мф та ПКК. Зниження рівня співвідношення NO/Arg свідчить про превалювання в пулі перитонеальних Мф нелікованих мишей з пухлинами супресорних Мф М2.

Проведення хіміотерапії у монорежимі не сприяло підсиленню протипухлинної імунної відповіді, практично всі досліджувані показники були значно нижчими, ніж у інтактних мишей. Лише у мишей з АКЕ відмічали збільшення, порівняно з ІК, активності ПКК (в 1,4 раза, $p < 0,05$).

У той же час, застосування у якості засобу імунотерапії бактеріального лектину, не залежно від режиму його введення та моделі пухлинного росту, сприяло активації і Мф, і ПКК. Ступінь змін активності цих клітин корелював з описаними вище характеристиками пухлинного росту у тварин кожної з груп. У мишей з АКЕ найбільш суттєве підвищення активності ПКК і Мф відмічали після введення лектину в монорежимі, у мишей з КЛЛ — за умови комбінованого застосування цисплатину і лектину (див. рис.).

Наступним етапом роботи стало визначення кореляційних зв'язків між модуляцією показників, що характеризують неспецифічну ланку протипухлинного імунітету та показниками протипухлинної (ІГРП, %) або антиметастатичної (ІІМ, %) ефективності різних режимів застосування бактеріального лектину та цисплатину. Залежно від використаної моделі пухлинного росту спостерігали різну за ступенем вираженості кореляцію модуляції всіх досліджуваних імунологічних параметрів з показниками гальмування росту пухлин (табл. 2).

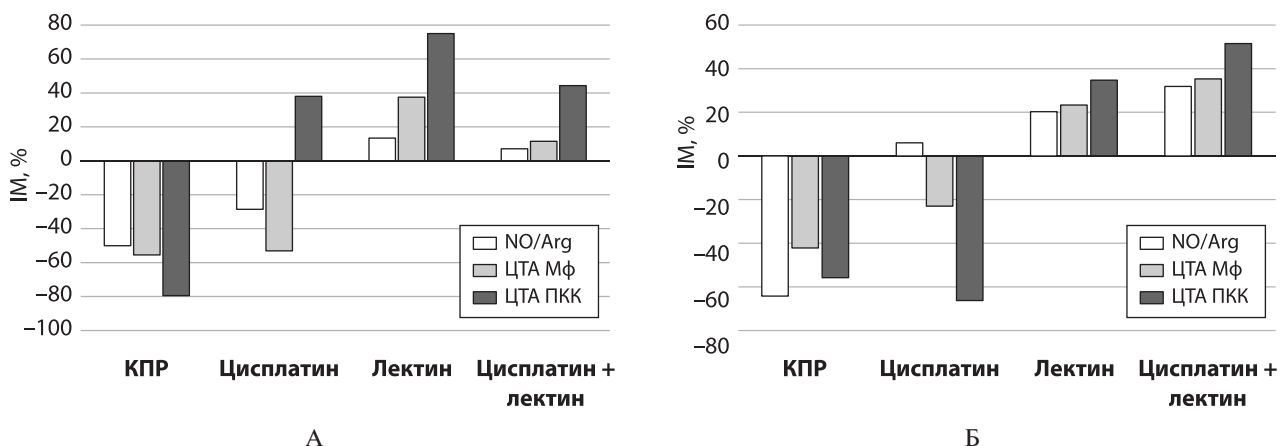


Рис. Модуляція показників активності ефektorів неспецифічної ланки імунітету мишей з АКЕ (А) та КЛЛ (Б) за умови різних режимів введення лектину та цисплатину

Для моделі АКЕ за ступенем кореляційного зв'язку можна скласти наступний ряд: цитотоксична активність ПКК, цитотоксична активність Мф — сильний позитивний кореляційний зв'язок; рівень продукції NO — виражений позитивний; активність Arg — виражений негативний. Таким чином, продемонстрована участь у реалізації протипухлинного ефекту бактеріального лектину обох основних ефекторів природного імунітету — Мф і ПКК.

Таблиця 2

Кореляція (r) між змінами дискретних імунологічних параметрів та показниками протипухлинної ефективності

Показники	Рівень продукції NO	Активність Arg	ЦТА Мф	ЦТА ПКК
ІГРП АКЕ, %	0,55	-0,51	0,87	0,88
ІГРП КЛЛ, %	0,82	-0,60	0,62	0,35
ІІМ КЛЛ, %	0,91	-0,69	0,82	0,85

У тварин з КЛЛ кореляція між показниками, що характеризують пухлинний ріст та активність ефекторів протипухлинного імунітету, була менш вираженою: між ІГРП та рівнем продукції NO — сильна позитивна, активністю Arg — виражена негативна; цитотоксичною активністю Мф до пухлинних клітин — виражена позитивна (див. табл. 2). Кореляційний зв'язок між ІГРП та активністю ПКК був помірний позитивний ($r=0,35$), що свідчить про незначний вклад цих клітин у гальмуванні росту пухлини. Проте, визначення кореляційних зв'язків між показником інгібіції метастазування та змінами дискретних імунологічних параметрів продемонструвало роль як Мф, так і ПКК в суттєвому пригніченні процесу метастазування у пролікованих мишей: кореляція між ІІМ та цитотоксичною активністю Мф, ПКК і рівнем продукції макрофагами NO була сильною позитивною, активністю Arg — вираженою негативною.

Отримані результати можуть свідчити про перевагу у пулі перитонеальних Мф мишей, яким проводили лікування, клітин з протипухлинними властивостями — Мф М1. Тобто продемонстрований значний антиметастатичний ефект може бути пов'язаний зі здатністю бактеріального лектину ремодулювати та підтримувати протягом тривалого часу на тлі росту пухлини поляризацію Мф у напрямку прозапального стану М1 (збільшення продукції NO на тлі зниження активності Arg). Причиною такої активації може бути як безпосереднє зв'язування лектину з TLR4 на поверхні Мф, так вплив зовнішніх факторів. Враховуючи відомості про інтерферогенні властивості лектинів інших штамів *B. subtilis*, можна припустити, що лектин *B. subtilis* ІМВ В-7724 підтримує активацію Мф опосередкованим шляхом, індукуючи продукцію лімфоцитами ІФН- γ .

Для обох моделей пухлинного росту виявлена наявність сильного позитивного кореляційного зв'язку між активністю Мф і ПКК: на моделі АКЕ — $r=0,72$ ($p<0,05$), на моделі КЛЛ — $r=0,85$ ($p<0,05$). Тобто, під впливом бактеріального лектину відбувається не тільки підсилення активності окремих ефекторів протипухлинної імунної відповіді, а й їх взаємна регуляція. Така регуляція може бути обумовлена спектром продукованих цими клітинами цитокінів. Про роль цитокінової регуляції у реалізації продемонстрованого антиметастатичного ефекту свідчить наявність сильної позитивної кореляції між рівнем співвідношення ІФН- γ /ІЛ4 та цитотоксичною активністю Мф ($r=0,80$; $p<0,05$) та ПКК ($r=0,82$; $p<0,05$).

Таким чином, підсумовуючи отримані результати, можна сказати, що пригніченню функціональної активності ефекторів неспецифічного імунітету, яке відбувається на тлі пухлинного росту, можливо запобігти за умови включення у схеми лікування засобів імунотерапії.

Отримані нами дані корелюють з результатами експериментальних та клінічних досліджень щодо взаємозв'язку між ефективністю цитостатичного лікування за допомогою конвенціональних і таргетних препаратів та станом імунної системи пацієнта. Зокрема, показано, що при використанні циклофосфану в метронному режимі протипухлинна відповідь асоційована з активністю ПКК, Мф та дендритних клітин. Низькі дози цього препарату дозволяють змінити поляризаційний стан Мф з супресорних М2 до прозапальних М1 [6].

Іншим напрямком імуногенного впливу засобів хіміотерапії може бути цитотоксичний вплив на популяції імуносупресорних клітин. Розвиток злоякісних пухлин супроводжується суттєвим збільшенням кількості Treg та MDSC, які здійснюють інгібуючий вплив на ефектори як клітинного, так і гуморального імунітету. Елімінація Treg сприяє усуненню імуносупресії та підвищенню ефективності протипухлинного лікування. Такий ефект продемонстрований, зокрема, для цисплатину [18, 19].

Наведені вище дані ілюструють терапевтичну доцільність “імуногенної хіміотерапії”; тобто програму хіміотерапії, спрямовану на стимулювання протипухлинної імунної відповіді як виправданого побічного ефекту терапії. Крім того, можна поєднати агенти, які викликають прямі цитотоксичні, специфічні для пухлинних клітин, та імуностимулюючі ефекти для досягнення оптимального терапевтичного результату. Теоретично індукція імуногенної загибелі пухлинних клітин або інших імуногенних ефектів має бути однією з цілей протипухлинної хіміотерапії для того, щоб імунна система могла сприяти знищенню резистентних до хіміотерапії трансформованих або стовбурових пухлинних клітин.

ВИСНОВКИ

1. На двох моделях пухлинного росту (КЛЛ та АКЕ) продемонстрована протипухлинна та анти-метастатична ефективність застосування у якості засобу імунотерапії лектину *B. subtilis* IMV B-7724.

2. Вираженість ефекту залежала від режиму введення препаратів (монорежим, комбінація імунотерапії з хіміотерапією) та модельної пухлини: для мишей з АКЕ більш ефективним було введення лектину в монорежимі (ІГРП = 53,2%); з КЛЛ — комбіноване введення лектину та цисплатину (ІГРП = 76,5%, ПМ = 78,6%).

3. Продемонстрований ефект в обох випадках пов'язаний зі здатністю лектину ремодулювати та підтримувати протягом тривалого часу на тлі росту пухлини поляризацію макрофагів в напрямку прозапального стану M1 (збільшення продукції NO на тлі зниження активності Arg).

4. Показана наявність сильного позитивного кореляційного зв'язку між активністю Мф і ПКК для обох моделей пухлинного росту: АКЕ — $r=0,72$ ($p<0,05$), КЛЛ — $r=0,85$ ($p<0,05$), що вказує не тільки на підсилення активності окремих ефекторів протипухлинної імунної відповіді за впливу бактеріального лектину, а й на їх взаємну регуляцію.

Робота виконана за підтримки Цільової програми наукових досліджень ВБФМБ НАН України (“Дослідження функціональної пластичності макрофагів за умов застосування засобів хіміо- та біотерапії раку”, № держреєстрації 0118U005470).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Zitvogel L, Apetoh L, Ghiringhelli F, *et al.* Immunological aspects of cancer chemotherapy. *Nat Rev Immunol* 2008; **8**: 59–73. <https://doi.org/10.1038/nri2216>.
2. Mian SA, Anjos-Afonso F, Bonnet D. Advances in human immune system mouse models for studying human hematopoiesis and cancer immunotherapy. *Front Immunol* 2021; **11**: 619236. doi: 10.3389/fimmu.2020.619236.
3. Pai SY, Lurain K, Yarchoan R. How immunodeficiency can lead to malignancy. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2021; **2021** (1): 287–95. doi: 10.1182/hematology.2021000261.
4. Moltó J, Moran T, Sirera G, Clotet B. Lung cancer in HIV-infected patients in the combination antiretroviral treatment era. *Transl Lung Cancer Res* 2015; **4** (6): 678–88. doi: 10.3978/j.issn.2218-6751.
5. Casares N, Pequignot MO, Tesniere A, *et al.* Caspase-dependent immunogenicity of doxorubicin-induced tumor cell death. *J Exp Med* 2005; **202** (12): 1691–701. doi: 10.1084/jem.20050915.
6. Merlano MC, Denaro N, Galizia D, *et al.* How chemotherapy affects the tumor immune microenvironment: a narrative review. *Biomedicines* 2022; **10** (8): 1822. doi: 10.3390/biomedicines10081822.
7. Wu J, Waxman DJ. Immunogenic chemotherapy: Dose and schedule dependence and combination with immunotherapy. *Cancer Lett* 2018; **419**: 210–21. doi: 10.1016/j.canlet.2018.01.050.
8. Tesniere A, Schlemmer F, Boige V, *et al.* Immunogenic death of colon cancer cells treated with oxaliplatin. *Oncogene* 2010; **29** (4): 482–91. doi: 10.1038/ncr.2009.356.
9. Chen J, Huang X, Huang G, *et al.* Preconditioning chemotherapy with cisplatin enhances the antitumor activity of cytokine-induced killer cells in a murine melanoma model. *Cancer Biother Radiopharm* 2012; **27** (3): 210–20. doi: 10.1089/cbr.2011.1116.
10. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes ETS 123. Protection of Vertebrate Animals, 18.III.1986. 48. <https://norecopa.no/media/2iydns5h/ets-123-original.pdf>
11. Kellar A, Egan C, Morris D. Preclinical murine models for lung cancer: clinical trial applications. *Biomed Res Int* 2015; **2015**: 621324. doi: 10.1155/2015/621324.
12. Calixto-Campos C, Zarpelon AC, Corrêa M, *et al.* The Ehrlich tumor induces pain-like behavior in mice: a novel model of cancer pain for pathophysiological studies and pharmacological screening. *Biomed Res Int* 2013; **2013**: 624815. doi: 10.1155/2013/624815.
13. Fedosova NI, Cheremshenko NL, Hetman KI, *et al.* Physico-chemical and cytotoxicity properties of Bacillus subtilis IMV B-7724 extracellular lectin. *Mikrobiol Z* 2021; **83** (1): 39–48. <https://doi.org/10.15407/microbiolj83.01.039>.
14. Chumak AV, Fedosova NI, Cheremshenko NL, *et al.* Assessment of antitumor properties of lectin B. subtilis IMV B-7724 in studies *in vivo*. *Oncology* 2022; **24** (1): 31–6. doi: 10.32471/oncology.2663-7928.t-24-1-2022-g.10306.
15. Chumak A, Fedosova N, Cheremshenko N, *et al.* Effect of lectin B. subtilis IMV B-7724 on the activity of the effectors of cellular component of anticancer immunity. *Exp Oncol* 2023; **45** (3): 328–36. <https://doi.org/10.15407/exp-oncology.2023.03.238>.
16. Symchych TV, Fedosova NI, Chumak AV, *et al.* Functions of tumor-associated macrophages and macrophages residing in remote anatomical niches in Ehrlich carcinoma bearing mice. *Exp Oncol* 2020; **42** (3): 197–203. doi: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-42-no-3.14928.
17. Anderson NR, Minutolo NG, Gill S, Klichinsky M. Macrophage-based approaches for cancer immunotherapy. *Cancer Res* 2021; **81**: 1201–8. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-20-2990.
18. Yang Z, Guo J, Weng L, *et al.* Myeloid-derived suppressor cells — new and exciting players in lung cancer. *J Hematol Oncol* 2020; **13** (1): 10. doi: 10.1186/s13045-020-0843-1.
19. Li F, Zhao Y, Wei L, *et al.* Tumor-infiltrating Treg, MDSC, and IDO expression associated with outcomes of neoadjuvant chemotherapy of breast cancer. *Cancer Biol Ther* 2018; **19** (8): 695–705. doi: 10.1080/15384047.2018.1450116.

THE EFFECTIVENESS OF COMBINED USE OF IMMUNO- AND CHEMOTHERAPY WITH DIFFERENT METASTATIC POTENTIAL TUMORS

I.M. Voyeykova, N.L. Cheremshenko, O.M. Karaman, A.V. Chumak, T.V. Symchych, N.I. Fedosova

R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Summary. *Aim:* to assess the effectiveness of the combined use of immune- and chemotherapy with different metastatic tumors. **Object and methods:** two experimental models were used: Ehrlich adenocarcinoma (ACE) and Lewis lung carcinoma (LLC). As a means of chemotherapy used cisplatin, biotherapy — *B. subtilis* IMB B-7724 lectin, which in low concentrations has immunostimulating activity. Animals of different groups were introduced in mono-mode or their combination. The standard tumor growth and metastasis rates were evaluated. Upon completion of treatment, the activity of nonspecific immunity effectors was evaluated. The statistical analysis of the results was performed according to the generally accepted methods of variation statistics. **Results:** on both models of tumor growth, antitumor and antimetastatic efficacy is demonstrated as a means of immunotherapy of *B. subtilis* IMB B-7724 lectin. The severity of the effect depended on the mode of its introduction (mono-mode, combination with chemotherapy) and

model tumors: for mice with ACE more effective was the introduction of lectin in mono-mode (the tumor growth index, TGI=53,2%); with LLC — combined injection of lectin and cisplatin (TGI=46,5%, metastasization inhibition index, MII=78,6%). The effect in both cases is associated with the ability of the lectin to remodel and maintain for a long time on the background of tumor growth polarization of macrophages in the direction of the proinflammatory state of M1 (increase in production of NO against the background of reduction of arginase activity (ARG)). **Conclusions:** antitumor and antimetastatic efficiency of various regimens of use of chemo-/immunotherapy is due to the activation of nonspecific immune response and depends on both the immunogenic characteristics of tumors and on the initial physiological features of the immune system.

Keywords: Ehrlich adenocarcinoma, Lewis lung carcinoma, lectin, cisplatin, antitumor activity, antimetastatic activity.

Адреса для листування:

Воєйкова І.М.
03022, Київ, вул. Васильківська, 45
Інститут експериментальної патології,
онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького
НАН України
E-mail: immunomod@ukr.net

Одержано: 18.11.2023