

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

МИКРОЭЛЕМЕНТЫ В ОНКОЛОГИИ. ЧАСТЬ 2. МИКРОЭЛЕМЕНТЫ И ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ИММУНИТЕТ

TRACE ELEMENTS IN ONCOLOGY. PART 2. TRACE ELEMENTS AND ANTITUMOR IMMUNITY

А.В. Кудрин, А.В. Скальный
A.V. Kudrin, A.V. Skalny

Автономная некоммерческая организация “Центр Биотической Медицины”, а/я 56, Москва 125047 Россия.

E-mail: skalny@orc.ru

Independent non-profit organization “Center of Biotic Medicine”, P.O. Box 56, Moscow 125047 Russia.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: микроэлементы, естественные киллерные клетки, естественная киллерная активность.

KEY WORDS: trace elements, natural killer cells, natural killer activity.

РЕЗЮМЕ: В процессе постоянного уничтожения опухолевых или трансформированных клеток принимают участие естественные киллерные клетки. На многих стадиях деятельности киллеров участвуют микроэлементы (Fe, Zn, Se, Li, Ge, Si) или зависимые от них лиганды (трансферрин, металло-тионеины). В обзоре излагаются данные о роли различных микроэлементов в регуляции противоопухолевого иммунитета.

SUMMARY: Natural killer cells participate in process of constant elimination of tumor or transformed cells. In many stades of killer action trace elements (Fe, Zn, Se, Li, Ge, Si) or dependent from them ligands (transferrin, metallothioneins are involved. In this review the data regarding the role of different trace elements in regulation of anti-tumor immunity are reported.

Введение

Попытки медикаментозного воздействия на противоопухолевый иммунитет (цитокины, адаптивный перенос клеток-киллеров) встречаются с различными препятствиями (токсичность препаратов, незначительность эффекта, дороговизна и недоступность применяемых методов), что заставляет искать подходы к воздействию на иммунную систему различными биологически активными веществами. Микроэлементы (МЭ) относятся к подобной группе веществ. Известно, что возникающие в пожилом возрасте гипомикроэлементозы (Zn, Se, Fe, Mn, Co) приводят к иммуносупрессии и предрасполагают к возникновению опухолей. Каким же образом МЭ

влияют на противоопухолевый иммунитет? Об этом и о уже имеющихся попытках применять МЭ в лечении и иммунореабилитации онкологических больных пойдет речь в данной статье.

Часть 2. Микроэлементы и противоопухолевый иммунитет. Популяция ЕК

Каждую минуту в организме человека появляется огромное количество соматических мутаций, которые могут быть потенциально неблагоприятными в плане опухолевой трансформации клеток. Иммунная система и многочисленные внутриклеточные системы репарации несут непрерывную функцию элиминации трансформированных и опухолевых клеток, поддерживая оптимальный баланс клеточных популяций. Главенствующую роль в процессах уничтожения опухолевых и трансформированных клеток играет система клеток противоопухолевого иммунитета. В популяции лимфоцитов определяется субпопуляция, которая не несет на поверхности типичных для Т- и В-лимфоцитов маркеров (ни Т-, ни В-лимфоциты). Эти лимфоциты обладают литическими свойствами по отношению к различным клеткам-мишеням. Такие киллерные клетки в зависимости от их морфофункциональных особенностей подразделяют на естественные (natural) киллерные клетки (ЕКК, ЕК или НК-клетки) и киллерные клетки (К-клетки). Общей особенностью ЕК- и К-клеток является способность лизировать клетки-мишени без предварительной сенсibilизации, что необходимо Т-киллерам. Морфологически это клетки большого размера с зернистостью и низкой плот-

ностью, из-за чего они получили название больших гранулосодержащих лимфоцитов (БГЛ). ЕК-клетки не зависят в своем развитии от вилочковой железы, не прилипают к заряженным поверхностям и не фагоцитируют. Функция ЕК-клеток в организме заключается в защите от развития опухолей, инфекционных, в том числе вирусных заболеваний, что, по сути, является функцией иммунного надзора. Механизм взаимодействия ЕКК с клетками-мишенями сложный, полилигандный.

На 1-м этапе, который зависит от присутствия Mg^{2+} , происходит распознавание клетки-мишени и связывание с ней (ruffling). Данная стадия длится около 1 мин. Затем происходит “программирование” лизиса (30–120 мин). ЕКК высвобождают перфорины и цитолизины, которые активируются местными протеиназами. На 3-й стадии ЕКК наносят “летальный” удар по мишени. После цитолиза время регенерации ЕКК около 3 ч, т.е. в данный промежуток времени эти клетки не способны осуществлять цитолитический эффект (Жаворонков, Кудрин, 1996). Мы попытались рассмотреть имеющиеся данные по регуляции МЭ естественной киллерной активности как *in vitro*, так и *in vivo*.

Эффекты лития

Литий относится к внеклеточным катионам и в медицинской практике известен как компонент лекарственных препаратов, применяемых в лечении маниакально-депрессивных психозов и тиреотоксикоза. Вместе с тем в опытах *in vitro* было показано, что совместная инкубация мононуклеарных клеток периферической крови с хлоридом лития и фитогемагглютинином (ФГА) или конканавалином А увеличивала естественную киллерную активность почти наполовину, что сопровождалось усилением синтеза γ -интерферона в популяции мононуклеарных клеток. Так как литий и митогены, увеличивая активность ЕК, не повышали числа клеток-эффекторов, способных присоединиться к клеткам-мишеням, можно утверждать, что механизм стимулирующего действия лития опосредован через продукцию ЕК γ -интерферона. Последний увеличивает экспрессию h2-антигена на клетках-мишенях, что и повышает их чувствительность к ЕК-лизису. Литий дозозависимо стимулирует продукцию ИЛ-6, гранулоцит-макрофаг-колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) (McGrat et al., 1991). В то же время известны свойства ИЛ-6 (20 кДа) как аутокринного стимулятора ЕК и В-лимфоцитов. Показано участие лития в стимуляции продукции ИЛ-2 Т-клетками больных системной красной волчанкой (Kucharz et al., 1993). Это является отражением влияния лития на инозитольный цикл Т-лимфоцитов, определяющего продукцию ИЛ-2. Kubera et al. (1994) отмечали, что иммуномодулирующие свойства лития зависят от типа клеточной популяции и способа назначения МЭ. В опытах на мышах авторы продемонстри-

ровали подавление под влиянием хлорида лития ЕК-активности к трансплантированным опухолям на 43% в первые 6 дней назначения с последующим возрастанием ЕК-активности в 2,5 раза по сравнению с контролем к 21 дню лечения. В связи с подобной динамикой ЕК-активности, некоторые авторы документировали лишь первую стадию (ингибиции ЕКК) и констатировали подавляющий эффект лития на ЕКК (Kubera et al., 1994). Вместе с тем, еще Kovithavongs et al. (1983) докладывали о стимуляции солями лития, как противоопухолевого ответа, так и реакцией отторжения трансплантата. В опухолевой культуре мышей литий стимулировал ЛАК (лимфокин-активированные киллеры) активность и подавлял опухолевый рост. Причем, если холерный токсин, который активирует аденилатциклазу, подавляет ЛАК, то литий снимает данный эффект, но не устраняет действие Д-сфингозина (ингибитора протеинкиназы С) и ЭДТА (Ca^{2+} -хелатора), добавляемых вместе с литием в культуру ЛАК.

Таким образом, эффекты лития реализуются через протеинкиназу С и активацию Са-механизма. Кроме того, литий активизирует продукцию mРНК ФНО- α в условиях совместного добавления Li^+ и ИЛ-2, причем оба последних агента оказывали в данном случае сильнейший противоопухолевый эффект, обусловленный уменьшением размеров опухолей и увеличением выживаемости опухоленесущих животных (Wu, 1995). Таким образом, литий является потенциальным противоопухолевым иммуномодулятором.

Эффекты марганца

Марганец (Mn^{2+}) является одним из наиболее важных жизненно необходимых МЭ. При содержании в селезенке $3,8 \cdot 10^{-5} \% Mn^{2+}$ способен вмешиваться в тончайшие иммунологические механизмы. Эффекты Mn^{2+} связаны с его способностью ускорять процесс транскрипции путем активации РНК-нуклеотидилтрансферазы (РНК-полимеразы), влиять на обмен фосфолипидов клеточных мембран (Mn -супероксиддисмутазы) (Авцын и др., 1991). Микромолярные концентрации Mn^{2+} значительно повышают активность аденилатциклазы лимфоцитов, а также усиливают ингибирующее влияние аденозина на аденилатциклазу. Стимуляция аденилатциклазы ведет к повышению внутриклеточного пула цАМФ, что запускает механизмы протоонкогенной активации генов *c-jun*, *c-fos* и *c-junb*, участвующих в экспрессии гена ИЛ-2, что в свою очередь индуцирует клоны ЕК (Новиков, 1996). Эти процессы соответствуют лишь ранним этапам дифференцировки ЕК, на поздних стадиях — увеличение уровня цАМФ тормозит активность ЕК. В больших концентрациях Mn^{2+} блокирует протеинкиназу А и тормозит внутриклеточную систему мессенджеров. Ионы Mn^{2+} вызывают спонтанную и индуцированную ФГА продукцию ИЛ-1 Т-лимфоцитами и блокируют продук-

цию ИЛ-2 и экспрессию его рецепторов на Т-лимфоцитах (Жаворонков, Кудрин, 1996). Показано, что введение солей марганца экспериментальным мышам стимулирует синтез α - и β -интерферонов и косвенно, через повышение продукции этих цитокинов, активирует естественную киллерную активность. У мышей, получавших соединения марганца, снижается количество опухолевых колоний в легких при введении им клеток меланомы B16-F10 (32). Мышам ряда линий с высокой (CBA/J), средней (C57 Bl/6J и C3H/HeJ) и низкой (A/J, C57 Bl/6bgJ) активностью ЕКК вводили 10–160 мкг/г массы тела $MnCl_2$. ЕК-активность у всех линий мышей в отношении всех клеток-мишеней (P815, YAC1, E14 и RBL5) в 2–4 раза (Smialowicz et al., 1988). Кроме стимуляции ЕК Mn резко усиливает экспрессию эпитопа 24 LFA-1 и Т-клеточное присоединение к ICAM-1 через LFA-1 на опухолевых клетках, т.е. Mn повышает чувствительность опухолевых клеток к ЛАК-лизису (Александров и др., 1997). Таким образом, использование соединений марганца является перспективным в плане применения этого МЭ при неопластических процессах.

Влияние на ЕК-активность МЭ II подгруппы

Эта группа включает как токсичные МЭ (Hg, Ba, Be, Ra, Cd, Sr), так и жизненно необходимые (Mg, Ca, Zn). Интересно, что именно эта группа элементов оказывает наиболее выраженное действие на ЕК, что связано, очевидно, со способностью катионов этих элементов активировать цАМФ-зависимую и кальмодулин-зависимую протоонкогенную дерепрессию генома (Жаворонков, Кудрин, 1996). В то же время известны механизмы влияния этих катионов на опухолевые клетки, Zn^{2+} и Hg^{2+} способны непосредственно изменять структуру Ja-антигенов (в K- и D-доменах) на поверхности клеток линии BW-5147, а Be^{2+} стимулирует экспрессию Ja-антигенов (Behbekani et al., 1985). Показано, что Zn^{2+} и Hg^{2+} стимулируют ЕК-активность в отношении клеток-мишеней опухолевой линии YAC-1, а также повышают продукцию клетками селезенки γ -интерферона, стимулирующего ЕК (Reardon, Lucas, 1982). Чувствительность клеток-мишеней к ртути у крыс линии Brown Norway генетически детерминирована, что связано с доказанным модулирующим влиянием металлов на иммунный ответ *in vitro* путем модификации молекул 2-го класса Главного Комплекса Гистосовместимости (ГКГС) (Druet, 1995). Предполагается, что ионы Hg^{2+} способны оказывать воздействие на продукцию ИЛ-2 путем связывания свободных тиольных групп экстраклеточных сайтов, что вызывает появление редоксного стимула, либо путем связывания внутриклеточных доменов рецепторов, что в обоих случаях ведет к агрегации и активации протеинкиназы $p56^{lck}$ (Izumi et al., 1994). В экспериментах на макрофагах показано, что дихлорид ртути нарушает в малых дозах продукцию α/β -ИФНа и ФНО- α , что стимули-

рует репликацию вирусов и подавляет ЕКК (Ellerman-Eriksen et al., 1994). Противоречивость эффектов ртути обусловлена дозозависимым характером влияния этого микроэлемента. В медицине и биологии имеет более актуальное значение характеристика эффектов “малых доз” в условиях длительной экспозиции, поскольку именно такой характер взаимодействий имеет место в экосистемах. Хроническая экспозиция соединениям ртути вызывает дисбаланс Т-хелперов I и II типа с преимущественной активацией Т-хелперов II типа и гиперпродукцией ИЛ-4 и подавлением Т-хелперов I типа и ингибированием продукции γ -ИФНа, ФНО- α и т.д. (Druet, 1995). Подобное соотношение в иммунной системе предрасполагает к развитию аутоиммунных и лимфопролиферативных заболеваний при депрессии противоопухолевой резистентности (Хаитов, Пинегин, 1996).

Cd^{2+} и Zn^{2+} индуцируют экспрессию в клетках белков-металлотионеинов и белков-иммуофиллинов (hsp-70). Последние реализуют защиту лимфоцитов от разнообразных токсических воздействий, а также являются сильнейшими иммуногенами для Т-лимфоцитов, участвуют в стимуляции экспрессии поверхностных антигенов карциномы, что увеличивает подверженность опухолевых клеток-мишеней ЕКК-лизису (Александров и др., 1997). Активность самих натуральных киллеров под влиянием двухвалентных катионов изменяется по-разному. В частности, под влиянием Cd^{2+} в первые 30 дней ЕКК-активность у крыс Вистар снизилась в 2 раза, а затем повысилась более чем в 2 раза, как среди лимфоцитов крови, так и среди клеток селезенки (большие гранулосодержащие лимфоциты — БГЛ). Прекращение воздействия Cd^{2+} сопровождалось нормализацией показателей ЕКК и БГЛ через 2 мес. (Cifone et al., 1989).

Дефицит цинка вызывает подавление ЕК-активности. Поэтому предварительная инкубация ЕК пожилых лиц с 10^{-4} моль Zn^{2+} (в течение 3 ч) восстанавливает активность ЕК против клеток линии Chang (против K-562 активность изменялась менее выражено) (Mocchegiani et al., 1998). Цинк в культуре K-562 с ЕК выступал в качестве кофактора в механизмах усиливающего действия α и γ -интерферона на активность ЕК, в то время как в не стимулированных интерфероном культурах отмечалось зависимое от дозы цинка угнетение лизиса клеток-мишеней. Было показано, что цинк значительно усиливал активность ЕК, особенно при низких соотношениях ЕК: клетки-мишени (Naven et al., 1993). Цинк стимулирует высвобождение ИЛ-2, ФНО- α , которые повышают активность противоопухолевых киллеров. Известны также антагонистические взаимодействия между катионами II подгруппы в плане влияния на ЕК. В частности, ионы Zn^{2+} предотвращали снижение ЕК-активности, развивавшееся под влиянием Cd^{2+} . Механизм этого процесса следующий: 1) цинк выполняет мессенджерные функции и способен активировать протеинкиназу C и снимать эффекты

блокаторов этого фермента; 2) цинк, являясь конкурентным антагонистом ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} , очевидно, блокирует транскрипционные факторы Fas, c-myc и стимулирует ген bcl-2, что способствует торможению эндонуклеаз и предупреждает апоптоз ЕК; 3) цинк стимулирует экспрессию в ЕК высокоаффинных рецепторов к ИЛ-2 и трансферрину, лиганды которых являются дифференцировочными сигналами (Жаворонков, Кудрин, 1996). Лечение цинком потенцирует резистентность к опухолям. Выше отмечалось о том, что цинкэссенциальный кофактор многочисленных транскрипционных и онкогенных факторов в опухолевых клетках (ras, A-20, ГКГС-связывающий онкогенный белок (MBP-2), Egr-1 и др.) (Singh et al., 1992). Очевидно, что Zn^{2+} обеспечивают не только жизнеспособность опухолевых клеток и их деление, но и поддерживают экспрессию тех рецепторных детерминант (ГКГС, Egr-1), которые участвуют в оптимизации ЕК-лизиса, т.е. делают опухолевые клетки подверженными лизису. Zn^{2+} являются кофактором металлопротеазы, участвующей в ферментативном превращении рецепторов на ЕК и других лимфоцитах: CD16, CD43, CD44, L-селектина, рецептора к ФНО- α , CD23, CD32, CD27, CD14, участвующих в кооперативных межклеточных взаимодействиях и взаимоотношениях с внеклеточным матриксом. Данная металлопротеаза ингибируется хелатором цинка — 1,10-фенантролином. Кроме того, цинк является важнейшим кофактором тимулина, стимулирующего ЕК; а также регулирует активность суперантигенов (Zn^{2+} необходимы на стадии связывания суперантигенов с молекулами ГКГС II типа) (Fraser et al., 1992). Суперантигены обеспечивают поликлональную активацию лимфоцитов и также повышают противоопухолевую резистентность. Radosevic et al. (1995) показали, что избыток Zn^{2+} вызывает торможение полимеризации актина в K562 (мишеневых клетках) и цитотоксической реакции в ЕК-лизисе за счет блока апоптоза K562. Rajagopalan et al. (1995) обнаружили во внеклеточном домене киллер-ингибирующего рецептора (KIR) гистидин и последовательность HEXXH, которые связывают Zn^{2+} и блокируют связывание KIR с HLA-Cw4 или HLA-Cw8 на поверхности мишеневых клеток. Добавление хелатора цинка — 1,10-фенантролина — приводило к связыванию ЕК с HLA-с молекулами и лизису мишеневых клеток.

Таким образом, именно оптимальное содержание цинка обеспечивает поддержание эффективного ЕК-опосредованного иммунного ответа. Соединения цинка подавляют рост BL-6 клеток меланомы за счет повышения синтеза в BL-6 ω -6-ненасыщенных жирных кислот и активизации ПОЛ (Druet, 1995). Механизм противоопухолевого действия цинка дозозависимым и является полимодальным, т.е. опосредованным через различные эффекторные пути.

Поскольку проблема дефицита цинка в рационе и в организме людей является общественной (Naven et al., 1993), и обнаружена причинная связь акциден-

тальной инволюции тимуса, снижения концентрации тимулина, Zn-FTS (Zn-содержащего тимического сывороточного фактора) и ИФНа с одной стороны и нарастания дефицита цинка с возрастом с другой, то коррекция возрастного дефицита цинка имеет громадное значение в свете вторичной профилактики злокачественных новообразований. Снижение ЕК-активности, обусловленное дефицитом цинка, обнаружено также у больных синдромом Дауна и муковисцидозом (Mocchegiani et al., 1998). Вышесказанное позволяет констатировать необходимость целенаправленной коррекции баланса цинка в организме при самых разнообразных состояниях для оптимизации противоопухолевой резистентности организма. Ионы Sr^{2+} блокируют в экспериментах *in vitro* ЕКК-зависимый лизис клеток-мишеней. Ионы Ba^{2+} выступают конкурентными антагонистами с Ca^{2+} в отношении Ca^{2+} -зависимых ЕК (Жаворонков, Кудрин, 1996). Механизм воздействия Ba^{2+} , очевидно, связан с ингибцией им Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФазы, так как Ca^{2+} и Mg^{2+} являются обязательными кофакторами созревания. Ионы Mg^{2+} , помимо прочего, обеспечивают активность интегринов (LFA-1) и экспрессию 24-го эпитопа LFA-1 на опухолевых клетках (Александров и др., 1997). Баланс магния не только обеспечивает поддержание ЕК-активности (Mg^{2+} -зависимый "ruffling") (Huwyler et al., 1985), но и снижает токсическое действие Pb^{2+} и Ni^{2+} на ЕК (McCooy et al., 1993).

Таким образом, описанные двухвалентные катионы оказывают иммуномодулирующее действие как на ЕК, так и на опухолевые клетки, обеспечивая полноценную кооперацию в ЕК-лизисе. Это подтверждает необходимость адекватного применения микроэлементной терапии с использованием ионов Zn^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Ba^{2+} , Be^{2+} в лечении больных злокачественными новообразованиями, а также в профилактике возникновения неоплазий, что обосновано данными об индуцирующем влиянии соответствующих гипомикроэлементозов на возникновение опухолей и иммунодефицитных состояний (Hansen et al., 1993).

Свинец и ЕК

У мышей C57Bl/6, получивших в течение 8 недель с питьевой водой ацетат свинца в дозе 1300 частей на миллион определяли АТ-зависимую клеточную (АЗКЦ) и ЕК-цитотоксичность в клетках селезенки. АЗКЦ по отношению к эритроцитам цыплят у подопытных мышей оказалась значительно сниженной по сравнению с таковой у контрольных животных, тогда как ЕК-активность не изменялась (в качестве клеток-мишеней использовали YAC-индуцированную у мышей A/J вирусом Молони лимфому) (Neilan et al., 1983). Последующие эксперименты подтвердили, что длительная (более 3 мес.) экспозиция соединениям свинца вызывает избирательное подавление АТ-зависимой и митоген-индуцированной клеточной цитотоксичностей.

Роль никеля в системе противоопухолевого иммунитета

Никель в иммунологическом отношении выступает как индуктор синтеза целого ряда цитокинов, опосредующих активацию как хелперного, так и супрессорного звена клеточного иммунитета. Ni-специфические клоны Т-лимфоцитов с фенотипом Т-хелперов (CD3⁺ 4⁺ 8⁻ 45 RD⁺, HLA-DR) выделяют ИЛ-1b, ИЛ-4, ИЛ-6, экспрессируют ИЛ-2-рецептор. При этом некоторые цитокины (ИЛ-4, ИЛ-6) выступают синергистами и пролонгируют взаимный эффект, обеспечивая стимуляцию ЕК-активности. Вместе с тем как *in vitro*, так и *in vivo* никель может выступать супрессором активности ЕК в отношении ряда опухолевых линий (УАС-1) (Smialowicz et al., 1985; 1988). Очевидно, эффекты никеля дозо-зависимы, при этом отрицательным аспектом является включение никелем каскада реакций контактной аллергии (через индукцию ИЛ-4), а также участие этого МЭ в канцерогенезе. Доказано, что защитное действие в отношении этих эффектов никеля оказывает магний (McCoу et al., 1993). Механизм этого действия заключается в стимуляции магнием активности ЕК в зоне действия никеля.

В целом, классические исследования R.I. Smialowicz et al. (1984–1985) продемонстрировали ингибирующий эффект солей никеля на ЕК и спленоциты мышей. Хлорид никеля, который был использован учеными, вызывал супрессию активности ЕК как *in vitro*, так и *in vivo*. Водонерастворимые соли никеля (сульфид никеля) оказывают противоположное действие. У обезьян *Macaca fascicularis* с внутрилегочной первичной или повторными иммунизациями эритроцитами барана после инстилляции Ni₃S₂ (0,06 мкмоль/г легкого) в одну иммунизированную и в одну контрольную долю получали бронхоальвеолярную лаважную жидкость и определяли ЕК-литическую активность. Под действием Ni₃S₂ ЕК-активность увеличивалась. Таким образом, водорастворимые соединения никеля оказывают супрессивный эффект на ЕК, однако водонерастворимые соединения способны повышать литическую активность ЕК.

Соединения МЭ III подгруппы

Некоторые синтетические соединения бора обладают плеiotропной: гиполипидемической, противовоспалительной и противоопухолевой активностью. Такими свойствами, в частности, обладает компактин (Hall et al., 1994). Механизм противоопухолевой активности соединений бора пока не известен: опосредован ли он через ЕК или нет.

Соединения галлия обладают противоопухолевой активностью в отношении некоторых линий мелкоклеточного рака легких, мочевого пузыря и злокачественных лимфом. Мы изучали внутриклеточные концентрации цинка в лимфоцитах, обрабо-

танных нитратом галлия (180 мкг/мл). Нитрат галлия снижал внутриклеточное содержание цинка в лимфоцитах (Koudrine, 1998).

Мы предполагаем, что противоопухолевые свойства галлия обусловлены не только ТФ-зависимым механизмом, но и антагонизмом с цинком, как ингибитором апоптоза. Свойства соединений галлия зависят от химической структуры соли. В частности, если эффект нитрата галлия зависит от свойств катиона, то эффекты арсенида галлия определяются свойствами мышьяка, который подавляет противоопухолевую резистентность (Burns et al., 1993). Соединения алюминия подавляют ЕК-активность в условиях *in vivo* (Garot, 1986).

Германийорганические соединения

Германий относится к довольно малораспространенным элементам земной коры (его содержание $7 \cdot 10^{-4}\%$). Известно в то же время, что соединения германия проявляют значительную биологическую активность. В частности, определены противоопухолевые свойства германийорганических соединений (ГОС) (Воронков, 1978). Практически лишены токсичности препараты германия являются мощными индукторами продукции интерферона при пероральном введении экспериментальным мышам (Yershov et al., 1990). Интерферон стимулирует ЕК-активность. ГОС являются стимуляторами продукции Т-хелперами ИЛ-4, который повышает активность ЕК и является фактором дифференцировки прекурсоров Th2, продуцирующих целый спектр цитокинов (ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-9, ИЛ-13, ГМ-КСФ), в свою очередь стимулирующих естественную киллерную активность (Колесникова и др., 1995). Известно также, что совместное действие γ -интерферона и ИЛ-4 на опухолевые линии фибробластов способствует ингибции индуцированной ФНО- α продукции металлопротеиназы-3 (стромелизина) и коллагеназ, нарушающих целостность экстраклеточного матрикса и снимающих контактное торможение в матриксе (Taylor et al., 1994). Интерфероны б (18–26 кДа), в (22 кДа), г (20–25 кДа) участвуют в упорядочении архитектоники экстрацеллюлярного матрикса (Lortat-Jacob & Grimaud, 1994). Таким образом, ГОС не только способствуют повышению ЕК-активности, но и тормозят метастазирование опухолевых клеток. Одно из ГОС — спирогерманий используется для лечения рака легких и мочевого пузыря в III–IV клинических стадиях и применяется как химиотерапевтический агент при развитии резистентности опухолей к препаратам цис-платины, винкристину, метотрексату или адриамицину (Лукевич и др., 1990).

Эти данные дают основания надеяться на дальнейшие исследования иммуномодулирующих свойств ГОС и их способности стимулировать ЕК-активность. Некоторые синтетические кремнийорганические соединения (КОС) также обладают про-

тивоопухолевыми свойствами в отношении экспериментальных линий опухолей у мышей BALB/c (сингенная карцинома почек) (Grna, 1992). КОС или силатраны тормозят рост и сокращают размер опухолей, однако попытки добиться усиления эффекта путем увеличения дозового режима не увенчались успехом вследствие высокой токсичности силатранов.

Селен и ЕК

Селен относится к, безусловно необходимым, или эссенциальным МЭ. Жизненная необходимость селена была доказана в связи с описанием целого ряда излечиваемых селеном заболеваний, к числу которых относится болезнь Кешана у человека (Авцын и др., 1991). Эффекты селена в организме определяются его участием в стабилизации клеточных мембран. В то же время известно, что противоопухолевый эффект селена является высокоспецифичным и, по-видимому, не связан с антиоксидантной функцией этого МЭ (Жаворонков, Кудрин, 1996). Известно также, что в жизнеспособной опухолевой ткани концентрация селена больше в 5–10 раз, чем в некротизированной (Авцын и др., 1991). Показано, что селен, может непосредственно стимулировать активность ЕК, тем самым, подавляя ЕК-чувствительные опухоли и стимулируя ЕК-резистентные линии неоплазий. Селен, способен косвенно, через стимуляцию продукции ИЛ-1 и ИЛ-2, повышать активность противоопухолевых клонов ЕК (Wang, 1992). Механизм противоопухолевого действия селена основан на включении этого МЭ в состав так называемых селенопротеинов (селенопротеин Р, селенопротеины с молекулярной массой 12,1, 15,6, 18,0, 19,7, 22,2, 55,5, 59,9, 64,9, 70,1, 75,4 кД), которые способны ингибировать ДНК- и РНК-нуклеотидилтрансферазы (ДНК- и РНК-полимеразы), нивелируя амплификацию опухолевого генома. Очевидно, что селен, опосредует свое индуцирующее воздействие на ЕК-клоны также своим влиянием на внутриклеточную компартментализацию кальция путем угнетения Са-насосов в микросомах и эндоплазматическом ретикулуме (Hogberg et al., 1985). Таким образом, селен является эссенциальным МЭ с большим будущим, тем более, что недавно было показано блокирующее действие селена на транскрипцию и репликацию ВИЧ (Lazo & Pitt, 1995). Borella et al. (1998) продемонстрировали в опытах *in vitro* на человеческих лимфоцитах необходимость по крайней мере 5 мкмоль (394 мкг/л) селена в виде селенита натрия или селенометионина для оптимальной функции ЕК (Borella et al., 1998).

Combs et al. (1998) в ходе многолетнего рандомизированного, плацебо-контролируемого исследования показали, что наличие 200 мкг/день селена в рационе американцев сокращает как общую частоту рака, так и частоту возникновения опухолей толстого кишечника, легких и простаты.

Трансферрин и ЕК

Трансферрин (ТФ) гликопротеин с молекулярной массой, 30 кД, участвующий в транспорте железа, а также ряда других металлов (Zn, Co, Ga, Al и др.). Обеспечивая перенос металлов к клеткам-мишеням, ТФ связывается с рецепторами на их поверхности, и подвергается эндоцитозу. При этом ТФ способен оказывать воздействие на внутриклеточные процессы метаболизма в органах иммунной системы, а также в опухолевых клетках (Авцын и др., 1991). Пролиферирующие ЕК экспрессируют в G_{1a} -фазе клеточного цикла высоко-аффинные рецепторы к ИЛ-2 (CD25), которые в комплексе с ИЛ-2 запускают в G_{1a} -фазе геномные механизмы экспрессии CD71 (рецепторов к ТФ). Блокада моноклональными антителами CD71 вызывает подавление естественной киллерной активности, но не угнетает дифференцировку ЕК. При этом активность ТФ в плане стимуляции ЕК максимальна при его насыщении железом до 20% (т. е. при нативной форме ТФ). В то же время апо-ТФ насыщенный медью, и нативный ТФ, насыщенный медью, неактивны. Исследование смешанных культур лимфоцитов подтвердило, что в начале культивирования преимущественно пролиферируют Т-клетки, а в дальнейшем, под влиянием синтезируемого ими ИЛ-2, в пролиферацию вовлекаются и не Т-клетки, в том числе, ЕК (Salmon et al., 1985). Иммуноцитокны обладают способностью глубоко перестраивать метаболизм железа через регуляцию продукции ферритина и ТФ при различных воспалительных заболеваниях. В частности, ИЛ-2 стимулирует в печени продукцию ТФ (Lissoni et al., 1993). В свою очередь ИЛ-2, повышая экспрессию рецепторов к ТФ, ведет к перераспределению внутриклеточного пула железа в ЕК. Большую роль играют рецепторы к ТФ в ЕК-лизисе, так как блокада их моноклональными антителами на опухолевых клетках линии К-562 коррелирует со снижением их чувствительности к ЕК-лизису (Selligman et al., 1992). Предполагают, что экспрессия рецепторов к ТФ на клетках-мишенях имеет отношение к чувствительности последних к действию ЕК. Показано, что один из представителей семейства цитокинов — фактор некроза опухолей (ФНО) — проявляет свою цитотоксичность при наличии в микроокружении коинкубированных с ФНО клеток линии L-929 железосодержащих компонентов и, напротив, цитотоксичность практически отсутствовала, когда среда для культивирования не содержала ионов железа, т. е. в случае бессывороточной среды, дополненной либо апо-ТФ, либо контрольным белком — человеческим сывороточным альбумином. Интересно, что проявление ФНО-цитотоксичности обеспечивалось железосодержащими компонентами, как ТФ-ассоциируемыми, так и не связанными с ТФ. Эти эффекты ФНО определяются вмешательством цитокина во внутриклеточный метаболизм железа (индукция синтеза ферри-

тина). При этом резистентные к цитотоксическому действию ФНО адипоциты и моноциты способны синтезировать ферритин, увеличивающий изоляцию железа в клетке-мишени, локально уменьшающий его концентрацию, что в свою очередь приводит к уменьшению формирования ОН[•]-радикалов и таким образом защищает клетки от ФНО-опосредованного токсического эффекта. В то же время в клетках линии L-929 ФНО не индуцирует синтез ферритина, поэтому эти клетки чувствительны к цитотоксическому действию ФНО. Аккумулированное в ферритин железо не потенцирует повреждающий эффект ФНО, так как в катализе токсичных свободных кислородных радикалов принимает участие лишь железо, поступившее в клетку и находящееся еще в состоянии перемещения между стабильными компартментами, в форме растворимого, так называемого “хелированного” пула (Калинина, 1994).

Таким образом, подтверждается необходимость иных, отличных от ФНО цитокинов для проявления прямого, обусловленного лимфокин-активными киллерами (ЛАК) лизиса опухолевых клеток. В присутствии десферроксамина (хелатора железа, который проникает внутрь клетки и действует именно на железо, находящееся в состоянии перемещения между различными компартментами клетки) возникает выраженный отток железа из опухолевой клетки, что запускает процессы импорта железа извне, а это может приводить к анти-клеточному эффекту (когда железо присутствует в микроокружении клеток-мишеней, тем самым, обеспечивая возможность значительного притока внутрь клетки) или вызвать пролиферативный эффект (когда в микроокружении клетки отсутствуют ионы железа и приток незначителен). Эти данные представляют определенный интерес для разработки перспективных методов использования ЕК и ЛАК в иммунотерапии процессов неоплазий, часто сопровождаемых явлениями гипоферремии. Эти подходы могут быть использованы в иммунокоррекции воспалительных заболеваний, так как высвобождаемые при воспалении цитокины, в том числе ФНО, усиливают деградацию циркулирующих иммунных комплексов ТФ-анти-ТФ, определяя гипоферремию. В то же время в процессе пролиферации лимфоцитов и ЕК утилизация железа для осуществления важнейших внутриклеточных процессов, включая синтез ДНК, происходит через синтез и экспрессию поверхностных рецепторов к ТФ. В условиях внешнего дефицита насыщенного железом ТФ определенные линии лимфоцитов сами синтезируют ТФ или утилизируют ТФ-независимый путь поглощения железа. Хелаторы железа связывают ТФ и тормозят пролиферацию лимфоцитов, поэтому хелаторы железа и антитела к ТФ могут быть использованы для лечения различных лимфопролиферативных заболеваний (Selligman et al., 1992).

ТФ может также обеспечивать целенаправленный транспорт в опухолевые клетки препаратов платины и галлия. Комплексы ТФ- Pt^{2+} характеризуются

гораздо более длительным периодом циркуляции в организме, обеспечивая поддержание цитотоксического эффекта в отношении Ф431 человеческого рака кожи (Hoshino & Misaki, 1995).

М.А. Риш и соавторы (1990) провели интересные исследования метаболизма железа у каракулевых овец-альбиносов. Серый цвет каракулевой овцы связан с рецессивным летальным геном, который вызывает развитие смерти у 5–10-месячных овец. Клиническая манифестация (гипопигментация, фотофобия, гепатоспленомегалия, лимфаденопатия, анемия, гиперкератоз и гиперсидероз) соответствует проявлениям при синдроме Чедиака-Хигаси у людей, при котором, как известно, обнаруживается гиперпродукция функционально неполноценных ЕК. Таким образом, метаболизм ЕК и опухолевых клеток тесно связан с обменом железа и ТФ.

Дискуссии и перспективы

Концепция о возможности существования микроэлементной физиологической системы иммунологического гомеостаза, входящей в общую регуляторную систему организма, насколько нам известно, не излагалась в литературе. Однако имеются факты, позволяющие предположить ее универсальное значение для регуляции функций иммунной системы. Учение о МЭ дополняет молекулярную биологию иммунных процессов на уровне атомов. Таким образом, актуальной проблемой является необходимость коррекции микроэлементного статуса организма с целью повышения противоопухолевой резистентности. Представляют интерес возможные механизмы действия МЭ на популяцию ЕК. Одним из важных предполагаемых эффектов действия МЭ является их влияние на инозитольный обмен, активность протеинкиназ, опосредующих протоонкогенную активацию, и включение экспрессии ядерных транскрипционных факторов (Pos-1, Pos-2 и т. д.), которые обеспечивают инициацию транскрипции генов, цитокинов (ИЛ-4 и др.). Кроме того, доказано стимулирующее действие Mg^{2+} , Zn^{2+} и др. на активность ДНК-нуклеотидилтрансфераз, повышающих синтез ДНК в ЕК (Malave et al., 1990). Активность самих ЕК может регулироваться МЭ на самых разных внутриклеточных уровнях. Цинк, кадмий и ряд других металлов выступают в качестве индукторов синтеза белков-МТ, которые благодаря высокой индуцибельности и способности генов МТ к интенсивной амплификации являются неспецифическим депо металлов в лизосомах клеток. Лизосомотропизм ряда МЭ также может влиять на активность ЕК на стадии ЕК-зависимого лизиса опухолевых клеток. Известно влияние катионов двухвалентных ионов на структуры, чувствительные к цитохалазину В (микрофиламенты, актин или актиноподобные структуры), с чем связывается некоторыми авторами их влияние на иммунологические функции (Krishna et al., 1980). Эта группа катионов имеет

свою собственную, высокоселективную систему транспорта в мембране лимфоцитов, функционирующую по еще не известным потенциалозависимым или рецепторуправляемым ионным каналам (Гуковская и др., 1987). В то же время известно, что на первом этапе ЕК-лизис (распознавание клеток-мишеней и связывание с ними) происходит с участием потенциал- и рецептор-управляемых механизмов. Наконец, внутриклеточный метаболизм некоторых МЭ (Fe^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Va^{2+} и др.) тесно связан с митохондриальными компартментами. Сайтами связывания катионов в этом случае выступают митохондриальные мембраны и геном, что, возможно, определяет интенсивность энергетических процессов в ЕК. Несмотря на гипотетичность представленных механизмов иммуномодулирующего действия МЭ на ЕК-активность, представляется перспективным изучение этой малоисследованной области знания в свете уже имеющихся попыток клинической коррекции противоопухолевого иммунитета путем устранения дисбаланса МЭ в организме.

Стимулирующим действием на ЕК обладают женьшень, алоэ и чеснок. Эффекты экстрактов этих растений связывают с высоким содержанием в них селена, германия и цинка (Лукевиц и др., 1990). В качестве перспективного иммуномодулятора в онкологии рассматривают соединения ванадия (Жаворонков и Кудрин, 1996). В последние годы в Венгрии создан препарат “Капли Береш Плюс”, представляющий собой концентрат более чем 20 МЭ, куда входит и цинк. Необходимость использования данного препарата в комплексном лечении онкологических больных обусловлена тем, что под влиянием опухолевого роста, а также химио-, рентгенрадиотерапии снижается эндокринная функция тимуса. Это проявляется нарушением способности организма продуцировать вещества с тимозиноподобной активностью (процесс, зависимый от присутствия цинка). Нарушение продукции тимозиноподобных соединений наблюдается и у участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС, у жителей Киева и пригорода, обследованных через 4 года после аварии, и у многих практически здоровых людей, подвергшихся воздействию факторов Чернобыльской аварии. Во всех этих случаях обнаруживаемый иммунодефицит проявляется цинк-зависимым снижением активности гормона тимуса, подавлением цитотоксической активности Т- и ЕК-клеток. Характерно, что разведение “Капель Береша Плюс” в 1000 раз в пробе эпителиальных клеток тимуса нормальных мышей, используемое для преинкубации, способствует усилению ими синтеза тимозиноподобных веществ. Именно указанная концентрация препарата является оптимальной для стимуляции эндокринной функции тимуса. Инъекции препарата сопровождаются повышением синтеза веществ с тимозиноподобной активностью как у нормальных, так и у тимэктомированных мышей. Основным компонентом, определяющим эту активность у нор-

мальных мышей, является продукт эпителиальных клеток тимуса – тимулин, содержащий активные ионы цинка. Наличие в “Каплях Береша Плюс” активных ионов данного металла и обеспечивает их поступление в функционально активные зоны синтеза (Гриневиц, Бендюг, 1995).

Учитывая свойства “Капель Береша Плюс” нормализовать и стимулировать ослабленную эндокринную функцию тимуса и тем самым корригировать цинкзависимые Т-иммунодефициты, данный препарат показан при фиброматозе, фиброаденоматозе, раке молочной железы (в этом случае уровень тимусного гуморального фактора снижен в 1,5–3 раза по сравнению с нормой), а также при раке других локализаций.

У больных раком молочной железы уровень гормонов тимуса заметно снижается по мере распространения процесса, достигая минимальных значений при IV стадии заболевания. Нарушения эндокринной функции тимуса у больных со злокачественными новообразованиями усугубляются проводимой противоопухолевой терапией. Это является объективным критерием для назначения таким больным препаратов, восстанавливающих функцию тимуса и зависимые от него иммунные процессы, иммунную систему в целом. В качестве таких средств, как показали исследования, можно назначать соединения цинка, германия, селена, бора.

Список литературы

- Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. 1991. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология. М.: Медицина. 496 с.
- Александров А.В., Джексон А.М., Румянцев А.Г. 1997. Анализ механизма модуляции межклеточных молекул адгезии ICAM // Иммунология. № 1. С.4–13.
- Гриневиц Ю.А., Бендюг Г.Д. 1995. О механизме иммуномодулирующего действия капель Береша-плюс // Врач. дело. № 5–6. С.133–135.
- Гуковская А.С., Зинченко В.П., Ходоров Б.И. 1987. Свойства митоген-активируемой системы транспорта Ca^{2+} в мембране лимфоцитов // Биол. мембраны. Т.4, № 9. С.923–931.
- Жаворонков А.А., Кудрин А.В. 1996. Микроэлементы и естественная киллерная активность // Арх. патол. № 6. С.62–67.
- Калинина А.Р. 1994. Молекулярные механизмы индукции и поддержания раеоочей активности лимфокин-активированных киллеров. Автореф. дисс. ... к.м.н. М. 17 с.
- Колесникова О.П., Тузова М.Н., Кудяева О.Т., Сафронова И.В., Мирскова А.Н., Левковская Г.Г., Козлов В.А. 1995. Механизмы иммуномодулирующего эффекта германийорганических соединений // Иммунология. № 1. С.27–31.
- Лукевиц Э.Я., Гар Т.К., Игнатович Л.М., Миронов В.Ф. 1990. Биологическая активность соединений германия. Рига: Зинатне. 191 с.

- Новиков В.В. 1996. Растворимые формы дифференцированных антигенов гемопоэтических клеток // Гематол. и трансфузиол. Т.41. № 6. С.40–43.
- Хайтов Р.М., Пинегин Б.В. 1996. Основные представления об иммуностропных лекарственных средствах // Иммунология. № 6. С.4–9.
- Borella P., Bargellini A., Solfrini V. 1998. Selenium interaction with human immune cell function with human immune cell functions // *Metal Ions in Biology and Medicine / Ph. Collery, P.Bratter, V. Negretti de Bratter, L. Khassanova, J.C. Etienne (eds.)*. Paris: John Libbey Eurotext. Vol.5. P.429–434.
- Burns L.A., McCay J.A., Brown R., Munson A.E. 1993. Arsenic in the sera of gallium arsenide-exposed mice inhibits bacterial growth and increases host resistance // *J. Pharmacol. Exp. Therapeutics*. Vol.265. № 2. P.795–800.
- Combs G.F., Clark L.C., Turnbull B.W. 1998. Evidence of cancer prevention by selenium in a randomized, placebo controlled, clinical trial // *Metal Ions in Biology and Medicine / Ph. Collery, P. Bratter, V.Negretti de Bratter, L. Khassanova, J.C. Etienne (eds.)*. Paris: John Libbey Eurotext. Vol.5. P.566–571.
- Druet Ph. 1995. Metal-induced autoimmunity // *Hum. and Exp. Toxicol*. Vol.14. № 1. P.120–121.
- Ellerman-Eriksen S., Christensen M.M., Mogensen S.C. 1994. Effect of mercuric chloride on macrophage-mediated resistance mechanisms against infection with herpes simplex virus type 2 // *Toxicol*. Vol.93. № 2–3. P.269–287.
- Fraser J.D., Urban R.G., Strominger J.L., Robinson H. 1992. Zinc regulates the function of two superantigens // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol.89. P.5507–5511.
- Garot P.O. 1986. Metabolism and possible health effects of aluminum // *Environ. Health Perspect*. Vol.65. P.363–441.
- Grna A. 1992. Antitumor effect of novel silatranes on renal cell carcinoma in mice // *Anticancer Res*. Vol.12. № 2. P.565–569.
- Hall I.H., Chen S.Y., Rajendran K.G., Sood A., Spielvogel B.F., Shih J. 1994. Hypolipidemic, anti-obesity, anti-inflammatory, anti-osteoporotic, and anti-neoplastic properties of amine carboxyboranes // *Environ. Health Perspect*. Vol.102. Suppl.3. P.21–30.
- Hansen S.H., Sandvig K., van Deurs B. 1993. Molecules internalized by clathrin-independent endocytosis are delivered to endosomes containing transferrin receptors // *J. Cell Biol*. Vol.123. № 1. P.89–97.
- Hoshino T., Misaki M. 1995. In vitro cytotoxicities and in vivo distribution of transferrin – platinum (II) complex // *J.Pharm. Sci*. Vol.84. № 2. P.216–221.
- Koudrine A.V. 1998. Trace elements and apoptosis // *Trace Elem. Biol. Med*. № 3. P.17–27.
- Kubera M., Bubak-Satora M., Holan V., Krol W., Basta-Kaim A., Roman A., Skowron-Cendrzak A., Shani J. 1994. Modulation of cell-mediated immunity by lithium chloride // *Z.Naturforsch. C*. Vol.49. № 9–10. P.679–683.
- Lazo J.S., Pitt B.R. 1995. Metallothioneins and cell death by anticancer drugs // *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol*. Vol.35. P.635–653.
- McCoy K.L., Gaaney D., Inman J.K., Stutzman R. 1993. Antigen presentation by B lymphoma cells. Requirements for processing of exogenous antigen internalized through transferrin receptors // *Immunol*. Vol.151. № 9. P.4583–4594.
- Mocchegiani E., Muzzioli M., Santarelli L., Tibaldi A., Cipriano C., Giacconi R. 1998. Zinc and metallothioneins on thymic and natural killer activities during liver regeneration in young and old mice // *Metal Ions in Biology and Medicine / Ph. Collery, P.Bratter, V.Negretti de Bratter, L. Khassanova, J.C. Etienne (eds.)*. Paris: John Libbey Eurotext. Vol.5. P.423–428.
- Naven X., Lavx A., Suissa A., Eidelman S., Hahn T., Rubin D., Pollack S. 1993. Effect of Zinc and interferon- γ on impaired natural killer cell activity in Crohn's disease // *Trace Elem. in Medicine*. Vol.10. P.39–43.
- Sandstead H.H. 1991. Zinc deficiency. A public health problem? // *Am. J. Dis. Child*. Vol.145. P.853–859.
- Selligman P.A., Kovar J., Gelfand E.W. 1992. Lymphocyte proliferation is controlled by both iron availability and regulation of iron uptake pathways // *Pathobiol*. Vol.60. № 1. P.19–26.
- Singh K.P., Zaidi S.I., Ratsuddin S., Saxena A.K., Murthy R.C., Ray P.K. 1992. Effect of zinc on immune functions and host resistance against infection and challenge // *Immunopharmacol. – Immunotoxicol*. Vol.14. P.813–840.
- Smialowicz R.J., Rogers R.R., Riddle M.M., Garner R.J., Rowe D.G., Luebke R.W. 1985. Immunologic effects of nickel. Suppression of natural killer activity // *Env. Res*. Vol.36. № 1. P.56–66.
- Smialowicz R., Riddle M.M., Rogers R.R., Luebke R.W., Burleson G.R. 1988. Enhancement of natural killer cell activity and interferon production by manganese in young mice // *Immunopharmacol*. Vol.10. № 1. P.93–107.
- Wang R. 1992. Investigation on the effect of selenium on T-lymphocyte proliferation and its mechanisms // *Tongji tike daxue xuebao — J. Tongji Med. Univ*. Vol.12. № 1. P.33–38.
- Wu C. 1995. Copper deficiency impairs immune cells // *Sci. News*. Vol.148. № 7. P.102.
- Yershov F.J., Narovlyansky A.N., Amchenkova A.M., Tazulakhova E.B., Ignatenko M.A., Khesin Ya.E. 1990. Germaniumorganic γ -interferon and inhibitor of interferon action inducers // *Eur. Fed. Immunol. Soc. Abstr*. P.130.