

ООО «МБЦ «Генериум», Москва

Введение. Хемокиновый рецептор CXCR4 и его лиганд SDF-1 экспрессируются во многих типах рака. CXCR4 на опухолевых клетках направляет метастазирование к местам высокой экспрессии SDF-1. CXCR4/SDF-1 также действуют локально, паракринно и аутокринно, усиливая рост опухоли и воспалительную нагрузку. SDF-1, секретлируемый опухолью и ее микроокружением, увеличивает выживаемость опухоли и модулирует трафик иммунных клеток в ее окружение. Поэтому CXCR4 является привлекательной мишенью для иммунотерапии рака с помощью антител. Основываясь на результатах партнерской компании Affitech AS, МБЦ «Генериум» ведет дальнейшую разработку и доклинические исследования антитела 9N10, антагониста CXCR4.

Цель исследования – доклиническая разработка полностью человеческого рекомбинантного антитела, ингибирующего CXCR4, и оценка его терапевтического потенциала по онкологическим показаниям.

Материалы и методы. Для создания изотипов IgG1 и IgG4 антитела 9N10 использовали стандартные методы молекулярного клонирования. Рекомбинантные антитела экспрессировались в клетках линии CHO. Антитела были выделены и очищены с помощью 2-стадийной хроматографии и диализа. Связывание антител с нативным CXCR4 определяли проточной цитометрией. Ингибирование внутриклеточного сигнального каскада CXCR4 оценивали измерением выброса внутриклеточного кальция в ответ на лиганд. Хемотаксис CXCR4⁺ раковых клеток *in vitro* определялся в камерах Бойдена. Для определения терапевтического потенциала 9N10 *in vivo* использовались 2 модели: 1) экспериментальная сингенная модель метастазирования мышинной меланомы B16 при инъекции раковых клеток в хвостовую вену; 2) мышинная сингенная ортотопическая опухоль молочной железы 4T1. Количество и тип клеток иммунной системы, инфильтрировавших в опухоль, оценивали методом многоканальной проточной цитометрии гомогенизированной опухоли при некропсии.

Результаты. Показано, что антитело 9N10 является высокоселективным ингибитором CXCR4, вытесняет его лиганд и блокирует его внутриклеточный сигнальный каскад. *In vitro* 9N10 блокирует миграцию (хемотаксис) нескольких видов раковых клеток (например, лимфомы CCRF-CEM и карциномы 4T1), не вызывая при этом апоптоз CXCR4⁺-клеток. В мышинных сингенных раковых моделях монотерапия 9N10 уменьшает количество легочных метастазов CXCR4⁺-меланомы B16 и увеличивает количество цитотоксических лимфоцитов, инфильтрирующих в опухоль молочной железы 4T1.

Заключение. Антитело 9N10 является перспективным кандидатом для дальнейших доклинических и возможных клинических испытаний в области иммунотерапии солидных опухолей. Ингибирование сигнального каскада CXCR4 с помощью 9N10 может иметь наибольший терапевтический эффект в комбинации с ингибиторами иммунного чекпойнта, поскольку блокирование CXCR4 усиливает проникновение цитотоксических Т-лимфоцитов в опухоль.

Л.В. Плотникова¹, А.М. Поляничко², М.В. Успенская¹, А.Д. Гарифуллин³, С.В. Волошин³

ОСОБЕННОСТИ ИНФРАКРАСНЫХ СПЕКТРОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ

¹ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский НИУ ИТМО»;

Международный научно-исследовательский институт «Биоинженерия», Санкт-Петербург;

²ФГБОУ ВО СПбГУ, Санкт-Петербург;

³ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА», Санкт-Петербург

Введение. Множественная миелома (ММ) составляет около 1 % всех злокачественных новообразований и чуть более 10 % гемобластозов. Наиболее частым симптомом ММ являются боли в костях, которые отмечаются более чем у 60 % пациентов на момент диагностики. Одним из критериев диагностики и оценки эффективности лечения больных ММ является определение уровня патологического белка в сыворотке крови и/или моче. Примерно у 80 % больных ММ методом электрофоретического анализа белков сыворотки крови можно выявить одиночный узкий пик или локализованную полосу (М-компонент) патологического белка, который вырабатывается клональными плазматическими клетками. При этом в сыворотке крови развивается выраженная диспротеинемия. Гипогаμμαглобулинемия присутствует только в 10 % случаев ММ, в то время как у оставшихся 90 % пациентов имеются более сложные нарушения соотношения белков сыворотки крови.

Материалы и методы. В нашем исследовании мы применили комбинацию электрофоретического разделения, спектральных подходов и термального анализа для выявления ключевых различий в белковом составе сыворотки крови, ее термального поведения и вторичной структуры белков для образцов, полученных из сыворотки крови больных ММ и здоровых доноров.

Результаты. На сегодняшний день, молекулярные механизмы возникновения болезни остаются слабо изученными. Среди новых и потенциально перспективных подходов к лечению ММ особый интерес представляют направления, основанные на изменениях структуры белков и нарушении процессов фолдинга белков в клональных плазматических клетках. В данной работе методами электрофореза высокого разрешения, рефрактометрии и инфракрасной спектроскопии мы провели сравнительный анализ вторичной структуры белков в составе плазмы крови у пациентов с ММ и здоровых доноров. Анализ полученных данных показывает, что по сравнению с образцами сыворотки крови здоровых доноров в пробах ММ-IgG в структуре белков сыворотки крови наблюдается уменьшение доли α -спиральных участков в среднем на 15–20 %. Уменьшение степени α -спиральности сопровождается также повышением количества межмолекулярных β -слоев в среднем на 10–15 %. Иная картина наблюдается для образца ММ-IgA. В этом случае среднее содержание основных элементов вторичной структуры в белках сыворотки крови близко к таковому в образцах, полученных от здоровых доноров. Увеличение доли межмолекулярных β -слоев в структуре белков сыворотки крови больных ММ-IgG свидетельст-

вует об увеличении роли межмолекулярных белок-белковых взаимодействий, стабилизирующихся за счет формирования межмолекулярных β -структур.

Заключение. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что избыток тяжелых или легких цепей в сыворотке крови приводит к их взаимодействию между собой, что проявляется в спектрах как увеличение доли межмолекулярных β -структур. Однако данные инфракрасной спектроскопии не дают прямого ответа на вопрос о том, взаимодействуют ли «избыточные» моноклональные белки только между собой или же они могут также связываться с полноразмерными иммуноглобулинами. Мы предполагаем, что имеют место оба типа взаимодействия.

С.А. Полозкова, В.А. Горбунова, Н.Ф. Орел, А.Е. Кузьминов, А.С. Одинцова, Г.С. Емельянова, А.А. Маркович

ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ТОКСИЧНОСТЬ КОМБИНАЦИИ АРАНОЗЫ С ДОКСОРУБИЦИНОМ ПРИ МЕТАСТАТИЧЕСКИХ НЕЙРОЭНДОКРИННЫХ НЕОПЛАЗИЯХ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Нейроэндокринные неоплазии (НЭН) – новообразования, которые происходят из клеток диффузной эндокринной системы и способны продуцировать различные биологически активные вещества. Ограниченный спектр эффективных и доступных препаратов для лечения метастатических форм, их невысокая эффективность и проблема переносимости диктуют необходимость поиска и изучения новых эффективных режимов химиотерапии.

Цель исследования – оценить эффективность и безопасность режима химиотерапии араноза + доксорубин в 1–4-й линиях лечения метастатических НЭН различной локализации.

Материалы и методы. В исследование были включены 26 больных с метастатическими НЭН различной локализации (панкреатические НЭН – у 13 пациентов, непанкреатические – у 12 и НЭН без выявленного первичного очага – у 1) в возрасте от 23 до 76 лет (медиана 48 лет), получивших режим араноза 500 мг/м² внутривенно в 1-й и 2-й дни + доксорубин 40 мг/м² внутривенно на 3-й день, каждые 3–4 нед. Высокодифференцированные нейроэндокринные опухоли (ВД НЭО) диагностированы у 21 пациента, низкодифференцированные нейроэндокринные карциномы (НД НЭК) – у 4 больных. В процессе исследования оценивали частоту объективного ответа (по шкале RECIST, версия 1.0), биохимический ответ (нормализация/снижение на 50 % и более уровня хромограмма А), медиану выживаемости без прогрессирования (по методу Каплана – Майера) и токсичность (шкала NCI–CTCAE, версия 3.0).

Результаты. Суммарно 26 больным было проведено 163 курса химиотерапии. Объективный ответ зарегистрирован у 19 % (5/26) пациентов, из них у 4 больных диагностированы ВД НЭО поджелудочной железы и у 1 – НД НЭК тимуса; стабилизация опухолевого процесса – у 69 % (18/26); прогрессирование – у 12 % (3/26). У 63 % (12/19) пациентов зафиксирован биохимический ответ. Отдаленные результаты лечения оценены у 23 больных, у 3 проследить течение заболевания не удалось. Медиана выживаемости

без прогрессирования составила 15 мес (95 % доверительный интервал 4,3–24). Из побочных явлений чаще всего отмечалась гематологическая токсичность – преимущественно I и II степени. Токсичность III–IV степени наблюдалась у 8 пациентов: тромбоцитопения – у 1, нейтропения – у 4, лейкопения – у 2 и гипербилирубинемия – у 1.

Заключение. Применение режима араноза + доксорубин при метастатических НЭН обеспечивает хороший контроль над ростом опухоли (88 %) и не сопровождается выраженной клинически значимой токсичностью.

Н.В. Полуконова¹, Н.А. Наволокин¹, Д.А. Мудрак¹, А.И. Прилепский², А.А. Широков², А.Б. Бучарская¹, Г.Н. Маслякова¹

ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТА АВРАНА ЛЕКАРСТВЕННОГО И КВЕРЦЕТИНА НА КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЕ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

¹ГБОУ ВПО «СГМУ им. В.И. Разумовского»

Минздрава России, Саратов;

²ФГБУН ИБФРМ РАН, Саратов

Цель исследования – сравнить цитотоксическую активность экстракта аврана лекарственного и отдельно входящего в его состав кверцетина в экспериментах *in vitro*.

Материалы и методы. Для исследования использован флавоноидсодержащий экстракт из сырья аврана лекарственного, полученный разработанным нами способом, химический состав которого описан ранее (количество кверцетина в сухом остатке экстрактивных веществ (получаемого из 10 г сухой травы аврана), установленное методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, составило не менее 350 мкг). Исследование проводили на клеточной культуре рака шейки матки HeLa из криобанка коллекции клеточных культур Института цитологии РАН. Культивирование выполняли в пластиковых флаконах в среде RPMI-4 (10 % эмбриональной сыворотки, гентамицин, ампициллин, амфотерицин). Эксперименты проводили в культуральных планшетах. Контролем служили клетки в питательной среде без добавления экстракта, выросшие в течение суток. Анализировали следующие концентрации экстракта аврана: 24; 12; 6; 3; 1,5; 0,75; 0,375 мг/мл и кверцетина: 0,1584; 0,0792; 0,0396; 0,0198; 0,0099; 0,00495; 0,002475 мг/мл, соответствующие его содержанию в экстракте. В качестве красителя использовали йодистый пропиций, проникающий в клетки через поврежденные мембраны.

Результаты. При концентрации экстракта аврана 0,375 и 0,75 мг/мл процент погибших клеток достоверно увеличивается ($p < 0,005$) в 5–6 раз, а при дальнейшем увеличении концентрации в 2 раза (1,5 мг/мл) – в 11 раз. При минимальной из исследованных концентраций кверцетина (0,002475 мг/мл) процент погибших клеток достоверно меньше, чем в контрольной группе. С повышением концентрации кверцетина процент погибших клеток достоверно увеличивается в 2–4 раза.

Заключение. Таким образом, при низких концентрациях кверцетина проявляет протекторные свойства и уменьшает процент погибших клеток HeLa, при увеличении