

активных агентов – цитокина фактора некроза опухолей и гормона тимозина.

Цель исследования – изучить влияние Рефнота в сочетании с химиотерапией на основные показатели иммунитета у больных диссеминированной меланомой кожи на разных этапах лечения.

Материалы и методы. В исследование были включены пациенты с диссеминированной меланомой кожи, исчерпавшие возможности стандартного лекарственного лечения ($n = 21$). Контролем служили доноры без признаков онкологических заболеваний ($n = 25$). Все пациенты получали лечение по следующей схеме: Рефнот вводили в дозе 100 тыс. МЕ в 1–5-й дни подкожно (п/к) с 2-дневными перерывами в течение 2 нед или по 400 тыс. МЕ п/к 3 раза в неделю в течение 4 нед. Начиная с 3-й или 5-й недели проводили химиотерапию (дакарбазин 250 мг/м² внутривенно (в/в) струйно в 1–3-й дни, ломустин 80 мг/м² внутрь в 1-й день через 3 ч после дакарбазина, цисплатин 80 мг/м² в/в в 3-й день). Перерыв между курсами составлял 2 нед. Состояние иммунитета определяли до начала лечения, после 2–4 нед терапии Рефнотом (до химиотерапии, 1-й курс) и перед 2-м курсом химиоиммунотерапии. Иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови проводили с помощью многопараметрового цитометрического анализа с использованием панели моноклональных антител.

Результаты. До лечения у 47,6 % больных было снижено количество CD3⁺ Т-лимфоцитов ($55,9 \pm 3,9$ %) по сравнению с контролем ($72,96 \pm 4,9$ %; $p = 0,0000$). В то же время у этой группы пациентов отмечалось значительное повышение исходного количества CD3⁻CD16⁺CD56⁺ естественных киллерных клеток ($24,0 \pm 5,1$ против $16,9 \pm 6,5$ % в контрольной группе; $p = 0,004$), а также снижение количества CD8⁺ Т-лимфоцитов, экспрессирующих коактивационный рецептор CD28, и величины соотношения CD8⁺CD28⁺/CD8⁺CD28⁻ ($0,36 \pm 0,13$; в контрольной группе 1,04; $p = 0,009$). Перед 2-м курсом лечения сниженное количество CD3⁺ Т-клеток было выявлено лишь у 9,1 % пациентов, а также повысилось количество CD3⁺CD4⁺ ($36,7 \pm 4,4$ до $43,6 \pm 3,4$ %; $p = 0,048$) и сниженное до лечения количество CD3⁺CD8⁺ Т-лимфоцитов. Повышенный у этих пациентов до лечения процент CD3⁻CD16⁺CD56⁺ естественных киллерных клеток ($23,7 \pm 5,1$ %) по сравнению с контролем ($10,7 \pm 5,7$ %, $p = 0,0006$; $16,9 \pm 6,5$ %, $p = 0,004$) после 2–4 нед терапии Рефнотом снизился до уровня контроля. В то же время отмечалась тенденция к росту их цитотоксической активности. У этих больных повысилось также сниженное количество CD8⁺CD28⁺-Т-лимфоцитов и в 2 раза возросло соотношение CD8⁺CD28⁺/CD8⁺CD28⁻. Это может указывать на повышение цитотоксического потенциала естественных киллеров под влиянием химиоиммунотерапии с включением Рефнота.

Заключение. Полученные в настоящем исследовании результаты подтвердили способность Рефнота оказывать положительное влияние на основные показатели противоопухолевого иммунитета у онкологических больных с поздними стадиями заболевания, исчерпавшими возможности стандартного лекарственного лечения.

Е.Г. Славина, А.И. Черткова, Л.Г. Жукова, М.А. Окружная, Э.К. Шоуа, А.А. Борунова, З.Г. Кадагидзе
ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ КОЛИЧЕСТВОМ РЕГУЛЯТОРНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ И КЛИНИЧЕСКИМ ЭФФЕКТОМ ХИМИОТЕРАПИИ ПРИ ТРИЖДЫ НЕГАТИВНОМ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

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

Введение. Эффективность противоопухолевой терапии во многих случаях зависит от состояния иммунной системы пациента, а определенные популяции иммунокомпетентных клеток связывают с прогнозом заболевания.

Цель исследования – изучение связи между исходным количеством основных популяций лимфоцитов периферической крови и результатами химиотерапии (ХТ) больных местно-распространенным трижды негативным раком молочной железы (ТН РМЖ).

Материалы и методы. В исследование были включены 32 пациентки с ТН РМЖ. Контролем служили здоровые женщины ($n = 26$). После ХТ (цисплатин + паклитаксел) больные получали оперативное лечение. До начала ХТ проводилось иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови методом проточной цитометрии. Определяли количество следующих популяций лимфоцитов: (CD3⁺, CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺, CD8⁺CD28⁺, CD8⁺CD28⁻, CD3⁺HLA-DR⁺, CD3⁺CD38⁺, CD4⁺CD25⁺)T⁻; B⁻; (CD3⁺CD16⁺CD56⁺) NKT⁻; NK⁻ и (CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺) регуляторных Т-клеток (T_{per}). В соответствии с эффективностью проведенного лечения пациентки были разделены на 2 группы: без прогрессирования (группа А, $n = 25$) и с прогрессированием заболевания (группа Б, $n = 7$).

Результаты. Проведенное исследование показало, что различия между группами главным образом касались регуляторных популяций лимфоцитов. Так у больных в группе А количество T_{per} было выше, чем в группе Б и в контроле ($1,27 \pm 0,92$; $0,9 \pm 0,54$ и $0,64 \pm 0,65$ соответственно; $p = 0,005$). Величина соотношения CD8⁺CD28⁺/CD8⁺CD28⁻ Т-клеток (CD8⁺CD28⁻ Т-клетки во многих исследованиях рассматриваются как супрессорная популяция) в группе А была статистически значимо ниже, чем в группе Б ($0,6 \pm 0,4$ и $1,2 \pm 0,78$ соответственно; $p = 0,047$), и ниже, чем в контрольной группе ($1,13 \pm 0,92$; $p = 0,045$). Уникальную роль в регуляции иммунного ответа играют NKT-клетки. Они могут и стимулировать, и подавлять противоопухолевый иммунный ответ. У больных в группе А исходное количество NKT-клеток было более чем в 2 раза выше, чем в группе Б ($13,3 \pm 5,5$ и $5,6 \pm 3,0$ соответственно; $p = 0,002$), и выше, чем в контрольной группе ($9,9 \pm 6,0$; $p = 0,046$). Логистический регрессионный анализ выявил значимую отрицательную связь между эффектом лечения и величиной соотношения CD8⁺CD28⁺/CD8⁺CD28⁻ ($b_1 = -1,67$; $p = 0,039$) и значимую положительную связь с количеством NKT-клеток ($b_1 = 0,43$; $p = 0,016$).

Заключение. Полученные результаты позволяют предположить существование взаимосвязи между исходным количеством регуляторных популяций лимфоцитов периферической крови и эффективностью проведенной ХТ при ТН РМЖ. Определение иммунологических маркеров, коррелирующих с течением болезни и клинической эф-

фективностью лечения, поможет разработать индивидуальные подходы к терапии пациентов с различными формами злокачественных новообразований и прогнозировать успех лечения.

Г.Б. Смирнова¹, С.А. Цуркан², Ю.А. Борисова¹, Е.М. Трещалина¹

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА АИМПИЛА НА ПОДКОЖНЫХ КСЕНОГРАФТАХ ОПУХОЛЕЙ ЧЕЛОВЕКА

¹ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;
²ООО «ФармАксесс», Москва

Введение. Препарат Аимпила представляет собой запатентованный в России пероральный нековалентный комплекс, состоящий из транспортного белка α -фетопротейна (АФП) и известного индуктора апоптоза. Показано ранее, что препарат неактивен *in vitro* и *in vivo* на опухолевых моделях, не экспрессирующих рецепторы АФП (*receptor alpha fetoprotein*, ReCAF). Действие препарата Аимпила на рост ReCAF-экспрессирующих опухолей человека ранее не изучали.

Цель исследования — экспериментальное изучение препарата Аимпила на рост подкожных ксенографтов ReCAF-экспрессирующих опухолей человека.

Задачи исследования: 1) оценка эффективности препарата Аимпила при многократном пероральном введении на подкожных ксенографтах с различной экспрессией ReCAF; 2) определение терапевтического диапазона доз на наиболее чувствительном штамме опухоли.

Материалы и методы. Препарат Аимпила в виде водного раствора гранулята (50 мг/мл) для капсулирования получали от разработчика ООО «ФармАксесс» (Россия). Исследования проведены на 3 штаммах подкожных ксенографтов опухолей человека с определенными нами рецепторами (см. тезисы в данном журнале): раке ободочной кишки SW620/ReCAF⁺, раке печени HepG2/ ReCAF⁺⁺ и раке молочной железы T47D/ReCAF⁺⁺⁺. Препарат Аимпила вводили в желудок металлическим зондом 5–10 раз ежедневно в диапазоне суммарных доз от 1,0 до 4,0 мг/кг. Контроль роста опухоли в динамике выполнен в адекватной схеме. Эффективность оценена по стандартному показателю в сравнении с контролем ($T/C_{\max} < 42\%$). Достоверность полученных данных рассчитана с помощью компьютерной программы Excel для Windows 2010 ($p < 0,05$).

Результаты. Показано, что препарат Аимпила при многократном пероральном введении ингибирует рост всех изученных подкожных ксенографтов в зависимости от экспрессии ReCAF. Чувствительность опухолей возрастает в ряду $T/C = 70\% < 51\% < 22\%$, что сопряжено с увеличением уровня экспрессии рецептора SW620/ReCAF⁺ < HepG2/ReCAF⁺⁺ < T47D/ReCAF⁺⁺⁺. На наиболее чувствительной T47D/ReCAF⁺⁺⁺ показано, что оптимальным терапевтическим режимом является 5-кратное ежедневное введение препарата Аимпила в разовой дозе 0,2 мг/кг (суммарная доза 1,0 мг/кг). В этом режиме на T47D/ReCAF⁺⁺⁺ достигается значимый достоверный воспроизводимый в серии опытов ингибирующий эффект на уровне $T/C = 22–37\%$ ($p < 0,05$) с морфологической верификацией гибели большинства опухолевых клеток через механизм апоптоза. Переносимость лечения при всех исследуемых режимах была удовлетворительной.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют в пользу рецептор-опосредованного действия препарата Аимпила на солидные опухоли человека и дают основание для изучения специфичности связывания препарата с рецепторами АФП.

Л.И. Смирнова, Л.П. Сушинина,

С.В. Устинкина, В.Н. Осипов

ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ АНАЛОГИ ЦИФЕТРЕЛИНА

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

Введение. Цифетрелин синтезирован в лаборатории химического синтеза РОНЦ им. Н.Н. Блохина, успешно прошел доклинические исследования и разрешен к клиническому изучению. В основу настоящей работы положена идея об использовании Цифетрелина в качестве специфического носителя цитотоксических групп. Адресная доставка цитотоксических агентов к опухолям с помощью специфических носителей позволяет увеличить активность, снизить токсичность и тем самым улучшить результаты лечения.

Цель исследования — синтез 2 цитотоксических аналогов Цифетрелина.

Материалы и методы. Синтез пептидов осуществляли классическими методами пептидной химии. При синтезе фрагментов пептидов использовали метод смешанных ангидридов. Для защиты α -аминогрупп на всех стадиях синтеза применяли трет-бутилоксикарбонильную группу. Карбоксильную группу C-концевого аминокислотного остатка треонина защищали этерификацией (метилловый эфир). Для защиты реакционноспособных групп боковых цепей лизина и цистеина использовали бензилоксикарбонильную и тетрагидропиранильную группы. Очистку и количественное определение основных веществ проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Результаты. Синтез аналогов Цифетрелина: Boc-Cys-(Thp)-Phe-D-Trp-Lys(CIPhe)-Thr-OMe — метилового эфира N^α-трет-бутил-оксикарбонил-S-тетрагидропиранил-цистеинил-фенилаланил-D-триптофил-N^ε-п-ди(2-хлорэтил)-аминофенилацетил-лизилтреонина (соединение 1) и CIPhe-Cys(Thp)-Phe-D-Trp-Lys(Z)-Thr-OMe — метилового эфира N^α-п-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетил-S-тетрагидропиранил-цистеинилфенилаланил-D-триптофил-N^ε-карбообензоксид-лизилтреонина (соединение 2) до получения тетрапептида Boc-Phe-D-Trp-Lys(Z)-Thr-OMe — метилового эфира N^α-трет-бутилоксикарбонил-фенилаланил-D-триптофил-N^ε-карбообензоксид-лизилтреонина осуществляли постепенным наращиванием пептидной цепи, начиная с C-концевой аминокислоты треонина. N^ε-карбообензоксид-группу лизина удаляли гидрированием. Тетрапептид со свободной N^ε-группой лизина конденсировали с п-ди(2-хлорэтил)аминофенилуксусной кислотой, присоединяли цистеин, предварительно защищенный по функциональным группам, в результате чего получили соединение 1. Соединение 2 синтезировано посредством конденсации Цифетрелина после снятия защитной группы с N^α-цистеина с п-ди(2-хлорэтил)-аминофенилуксусной кислотой.

Заключение. Разработаны методы синтеза 2 цитотоксических аналогов Цифетрелина. Соединения 1 и 2 исследуются на наличие противоопухолевой активности.