

ПАТОГЕНЕЗ, ДИАГНОСТИКА И ИММУНОТЕРАПИЯ ИММУНОПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

ОНКОИММУНОЛОГИЯ И ГЕМОБЛАСТОЗЫ

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ЭКСПРЕССИЕЙ РЕЦЕПТОРА NKG2D НА ЛИМФОЦИТАХ И ЕГО ЛИГАНДАМИ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА И КИШЕЧНИКА

Абакушина Е.В., Пасова И.А., Неприна Г.С.,
Каприн А.Д.

*Медицинский радиологический научный центр
им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный
медицинский исследовательский радиологический
центр» Министерства здравоохранения РФ, Обнинск,
Россия*

На современном этапе развития онкологии важной задачей является поиск дополнительных диагностических маркеров и точек приложения для биотерапии опухолей. В настоящее время эффект ускользания опухоли от иммунного надзора изучен не полностью, но некоторые механизмы этого феномена уже достаточно хорошо известны. Одним из таких механизмов является феномен сбрасывания значимых опухоле-ассоциированных молекул с поверхности трансформированных клеток, например, стресс-индуцированных молекул МІСА, которые должны распознаваться цитотоксическими лимфоцитами через NKG2D и уничтожаться. В данном случае лиганд рецепторное взаимодействие имеет важное значение.

Цель. Выявление взаимосвязи между уровнем МІСА в сыворотке крови онкологических больных с различным распространением процесса и экспрессией рецептора NKG2D на лимфоцитах.

Материалы и методы. В работе использовали периферическую кровь 60 первичных больных с гистологически подтвержденным диагнозом: I группа – рак желудка ($T_{1-4}N_{0-3}M_{0-1}$) – 21 человек и II группа – рак кишечника ($T_{2-4}N_{0-2}M_{0-1}$) – 39 человек. Метастазирование процесса было обнаружено у 8 (13,3%) больных раком желудка и 19 (31,7%) больных раком кишечника. Контрольную группу составили 20 условно здоровых добровольцев.

Содержание растворимых форм молекул sMICA в сыворотке крови при помощи ИФА (Abscam, США) по инструкции. Субпопуляционный состав Т-, NK- и NKT-лимфоцитов периферической крови и маркера активации NKG2D на Т- и NK-клетках оценивали на проточном цитофлуориметре FACScan (Becton Dickinson, США) с использованием меченых антител анти CD45-PE, CD3-PC5.5, CD16/56-FITC (Beckman Coulter, Франция). Анализировали не менее 5000 событий в секторе живых клеток. Экспрессию NKG2D (CD314-PE) (eBioScience, США) анализировали на поверхности CD56⁺ и CD3⁺ лимфоцитов.

Результаты. У большинства больных раком желудка и кишечника уровень sMICA в 4,6 раз превышает контрольные значения, что может служить одним из диагностических маркеров ($p < 0.05$). Содержание NK-клеток в обобщенной группе больных при раке желудка и кишечника почти в 3 раза превышает референсные значения. Также в обеих группах наблюдается значимое увеличение экспрессии активирующего рецептора NKG2D на лимфоцитах и NK-клетках – с 9,1% до 19,7%. При этом экспрессия NKG2D была повышена в большей степени у больных раком желудка (в 2,6 раза). У больных раком кишечника значимо снижено содержание NKT-лимфоцитов с $2,9 \pm 2,1\%$ до $1,8 \pm 1,7\%$ ($P = 0,03$) по сравнению с группой больных раком желудка.

Также нами были проанализированы результаты фенотипирования лимфоцитов у больных с наличием метастазов и без них. При раке желудка с метастазами значимо повышено количество NK-клеток и экспрессия рецептора NKG2D на лимфоцитах и NK-клетках. В группе больных раком кишечника с метастазами также наблюдалось увеличение доли NK-клеток и CD314⁺NK-клеток, но отличия от группы без метастазов были не достоверны. Среднее содержание активирующего рецептора NKG2D у пациентов обеих групп составило более 50%, что выше чем в контрольной группе. Выявились достоверное увеличение CD8⁺Т-лимфоцитов у больных раком желудка с распространенным процессом до $32,8 \pm 9,8\%$ по сравнению с подгруппой без метастазов – $27,1 \pm 17,9\%$ ($P = 0,047$). При раке кишечника с метастазированием содержание NKT-лимфоцитов снижено ($P = 0,03$). Показано, что CD314 экспрессируется на более чем 87% NK-клеток как у пациентов с раком желудка, так и у пациентов с раком кишечника, что выше, чем у здоровых доноров.

Таким образом, повышение сыровоточного уровня sMICA в группах больных раком желудка и раком толстого кишечника сопровождалось ростом доли NK-клеток и увеличением поверхностной экспрессии NKG2D в популяции лимфоцитов у этих больных. При анализе субпопуляции Т-лимфоцитов было показано, что доля NKG2D⁺Т-клеток достоверно снижена в обобщенной группе больных за счет вклада низких показателей больных раком желудка. Таким образом, растворимые молекулы МІСА в большей степени оказывают негативное влияние на экспрессию NKG2D на Т-клетках, чем на NK-клетках.

Заключение. В работе обнаружена взаимосвязь между уровнем лигандов стресс-индуцированных молекул МІСА и экспрессией NKG2D на лимфоцитах крови у больных раком желудка и кишечника. Показано, что с повышением уровня sMICA у больных раком желудка увеличивается количество циркулирующих NK-клеток, а при раке

кишечника наоборот уменьшается что, вероятно, связано с различным механизмом иммунного ответа и патогенезом данных злокачественных новообразований. Также можно сделать вывод о том, что высокий уровень иммунорегуляторных молекул МІСА, лигандов NKG2D и увеличение их концентрации в сыворотке крови при метастазировании, а также повышение процента цитотоксических лимфоцитов и NKG2D⁺NK-клеток, у большинства больных ЗНАО может служить фактором неблагоприятного прогноза.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда (проект № 14-35-00105) и гранта Президента НШ-9069.2016.4.

ОПЫТ ПРОВЕДЕНИЯ АДОПТИВНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ АКТИВИРОВАННЫМИ ЦИТОТОКСИЧЕСКИМИ ЛИМФОЦИТАМИ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Абакушина Е.В.¹, Пасова И.А.¹, Козлов И.Г.^{2,3}, Каприн А.Д.⁴

¹ Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Министерства здравоохранения РФ, Обнинск, Россия

² ФГБУ «Национальный научно-практический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии» Д. Рогачева, Москва, Россия

³ ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет» им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

⁴ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Министерства здравоохранения РФ, Обнинск, Россия

Как известно, методы иммунотерапии, основанные на стимуляции лимфоцитов опухолевым антигеном, цитокинами, индукторами пролиферации и дифференцировки или сочетанием данных воздействий достаточно известны и хорошо себя зарекомендовали при лечении различных злокачественных новообразований. В данной работе представлен опыт применения адоптивной иммунотерапии (АИТ) аутологичными активированными цитотоксическими лимфоцитами у различных онкологических больных после комплексного лечения.

Цель. Оценка переносимости и эффективности АИТ у онкологических больных на различных этапах противоопухолевой терапии.

Материалы и методы. АИТ была проведена 82 онкологическим больным обоого пола с морфологически под-

твержденным диагнозом, подписавшим информированное согласие (табл.).

Для получения большого количества активированных лимфоцитов выделенные из периферической крови больного мононуклеарные клетки культивировали на протяжении 10-14 дней в питательной среде с добавлением ІL-2 и ІL-15 в СО₂ инкубаторе во влажной атмосфере при 37 °С. Введение клеток в количестве от 2 до 20 млн проводили каждые 2-3 дня. Далее АИТ продолжали клеточным продуктом по индивидуальной схеме. Исследование было одобрено этическим комитетом МРНЦ им. А.Ф. Цыба.

Результаты. В работе клинически доказана эффективность применения АИТ с использованием активированных аутологичных лимфоцитов среди которых доля НК-клеток составляла от 30 до 98%, а цитотоксических лимфоцитов более 70%. Побочных явлений выявлено не было. Появлении реактивных лимфоузлов является отражением процесса активации лимфоцитов *in vivo* во вторичных лимфоидных органах. Результаты исследования показали эффективный ответ на терапию у больных меланомой в 9,8% случаев, стабилизацию болезни у большей части пациентов в 58,8% случаев. У больных с ОЖКТ в 42,9% наблюдалась стабилизация процесса. У одной пациентки был зафиксирован частичный ответ. У больных раком легкого, РМЖ и РЛ диагностирована стабилизация процесса в 70% случаев. Таким образом, среди 82 онкологических больных объективный эффект достигнут у 7,3% больных, а стабилизация процесса зафиксирована более чем у половины испытуемых в 56,1% случаев. У пациентов без объективного ответа на АИТ отмечено увеличение продолжительности безрецидивного периода, контроль над опухолью достигнут у 46 пациентов (56,1%). Большинство больных отмечали уменьшение побочных эффектов от химиотерапии, которые ранее проявлялись наличием диспепсии, тошноты, рвоты, нарушением дефекации, депрессией и упадком сил.

Заключение. АИТ активированными аутологичными цитотоксическими лимфоцитами является безопасным методом лечения. Проведение АИТ у онкологических больных с неблагоприятным прогнозом наиболее эффективна при минимальном объеме опухолевой массы и при продолжительном (более 2-х месяцев) и непрерывном лечении без длительных перерывов в курсах АИТ. Положительные отзывы пациентов дают основание полагать, что АИТ активированными лимфоцитами может применяться для улучшения качества жизни онкологических больных.

ТАБЛИЦА (К ТЕЗИСАМ АБАКУШИНОЙ Е.В. И ДР.)

Нозология/ характеристика	Группа I	Группа II	Группа III			Всего
	Меланома	Опухоли ЖКТ	Рак молочной железы	Рак почки	Рак легкого	
Количество пациентов, чел. (%)	51 (62,2)	21 (25,6)	5 (6,1)	4 (4,9)	1 (1,2)	82 (100)
Средний возраст (интервал), лет	52±13 (26-82)	54±13 (25-79)	54±15 (36-79)	57±8 (48-66)	60	56±12 (26-82)
Наличие метастазов, чел. (%)	43 (84,3)	15 (71,4)	3 (60)	4 (100)	1 (100)	63 (75,9)
Количество курсов АИТ	107	40	12	5	3	170
Время наблюдения (интервал), мес.	11,8 (1-33)	13,9 (4-37)	12,7 (2-30)	21,5 (6-28)	12	14,4 (1-37)

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда (проект № 14-35-00105) и гранта Президента НШ-9069.2016.4.

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ

Авдеева Ж.И.¹, Солдатов А.А.¹, Киселевский М.В.²,
Бондарев В.П.¹, Меркулов В.А.

¹ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

²ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Онкологические заболевания в большинстве промышленно развитых стран занимают второе место по причинам летального исхода вслед за сердечно-сосудистыми заболеваниями. Несмотря на значительные успехи клинической онкологии, многие вопросы лекарственной терапии остаются нерешенными. Используемые для химиотерапии препараты подавляют пролиферацию всех быстро делящихся клеток. В отличие от них препараты таргетной терапии воздействуют на конкретные молекулы, задействованные в механизмах канцерогенеза и роста опухолей. Для таргетной терапии в основном используются биотерапевтические препараты с иммуноотропной направленностью действия. Эффективность таких препаратов обеспечивается за счет формирования и стимуляции противоопухолевого иммунитета или за счет направленного действия, вызывающего подавление роста, гибель опухолевых клеток или нарушение васкуляризации опухолевой ткани. Современные достижения биотехнологии позволили разрабатывать лекарственные препараты моноклональных антител (МкАТ), обладающих направленным действием на опухолевые клетки, ростовые факторы или стимулирующих противоопухолевый иммунитет. При разработке препарата МкАТ с противоопухолевой активностью, прежде всего, проводят исследования по определению антигена (АГ), локализованного на поверхности опухолевой клетки, либо рецепторов, участвующих в передаче активационных сигналов. При этом следует учитывать следующее – АГ должен экспрессироваться преимущественно на опухолевых клетках, принимать важное участие в развитии опухоли и быть представленным на клетках наиболее часто встречающихся опухолей. Основные трудности при разработке противоопухолевых препаратов МкАТ связаны с гетерогенностью опухолевых АГ, «нежелательной» иммуногенностью МкАТ и способностью опухолей включать механизмы «ускользания» от противоопухолевого иммунитета. Вследствие генетической нестабильности в клетках опухолевой ткани происходят частые мутации, что сопровождается изменением поверхностных АГ и уровнем их экспрессии, в связи с этим препараты МкАТ могут терять клиническую эффективность. Для снижения «нежелательной» иммуногенности с целью повышения эффективности и снижения безопасности разрабатывают препараты МкАТ, структура которых приближена или полностью соответствует структуре иммуноглобулина (Ig) человека. Однако даже в этом случае нельзя в полной мере прогнозировать проявление иммуногенности МкАТ при клиническом применении. За счет продукции метаболитов, иммуносуппрессиру-

ющих цитокинов, хемокинов опухолевые клетки, а также клетки микроокружения опухоли способны блокировать развитие иммунного ответа на любом из его этапов, обеспечивая иммунотолерантность опухолей. Одним из механизмом, обеспечивающих недоступность клеток опухоли для воздействия цитотоксических Т-Лф, является потеря экспрессии молекул ГКГ, участвующих в формировании комплекса с опухолевым АГ, распознаваемым Т-Лф. Отсутствие экспрессии молекул ГКГ чаще наблюдается на клетках наиболее злокачественных опухолей. Опухолевые клетки могут экспрессировать молекулы Fas лиганда (известного как «фактор смерти») и вызывать ответный апоптоз иммунокомпетентных клеток, экспрессирующих Fas молекулы, в частности, цитотоксических Т-Лф, нормальных киллеров и ДК. Клетки опухоли способны продуцировать вещества, подавляющие функциональную активность ДК, направляя дифференцировку Т-Лф по Th2-фенотипу, снижать количество клеток Th1-фенотипа, более необходимого с точки зрения формирования цитотоксических клеток; подавлять механизмы внутриклеточной передачи сигналов, что затрудняет активацию Т-клеток. Продукция опухолевыми клетками трансформирующего фактора роста (TGF-β) приводит к подавлению активности, как Т-Лф, так и АПК; синтез фактора ангиогенеза опухолей (FAO) стимулирует развитие сосудов и способствует инвазивному, росту опухолевой ткани; продукция IL-1β, фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) и GM-CSF стимулирует пролиферацию иммуносупрессивных миелоидных клеток. Синтез веществ, проявляющих иммуносупрессивную активность, ингибирующих функциональные свойства ДК, как АПК, а также определяющих путь дифференцировки Т-клеток, существенно влияет на развитие и реализацию противоопухолевого иммунного ответа. В основе механизма действия лекарственных препаратов МкАТ нового поколения лежит их способностью вызывать активацию цитотоксических Т-Лф, осуществляющих естественную иммунную защиту от опухолевых процессов, и воздействовать на механизмы подавляющие их активность. К таким препаратам относятся МкАТ, воздействующие на лиганды, подавляющие активность Т-Лф (лиганд-1 программируемой гибели клеток (PD-L1) и костимулирующие молекулы, такие как CTLA-4). Успешно применяются препараты МкАТ, специфичные к опухолеассоциированным АГ, ростовым факторам, конъюгированные препараты.

СУБПОПУЛЯЦИИ Т-ЛИМФОЦИТОВ КАК ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРОГРЕССИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Багина У.С.¹, Игнатьев Ю.С.², Волкова Т.О.¹

¹ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», Петрозаводск, Россия

²ГБУЗ «Республиканский онкологический диспансер», Петрозаводск, Россия

Исследования последних лет показали, что рост большинства злокачественных опухолей сопровождается значительными нарушениями различных звеньев иммунного ответа организма. Традиционно роль иммунной системы в патогенезе онкологических заболеваний рассматривают в аспекте ее взаимодействия с опухолью, направленного на отторжение злокачественного новообразования, либо способствующего его росту и прогрессии. Главную роль

в противоопухолевом иммунитете играет клеточный иммунный ответ, ключевыми участниками которого являются Т-лимфоциты. Т-лимфоциты экспрессируют дифференцировочные антигены, которые объединены в кластеры дифференцировки (CD). Субпопуляции CD-клеток различны по функциям, стадиям развития и активации Т-лимфоцитов и могут служить иммунологическими маркерами онкогенеза, в том числе и рака молочной железы (РМЖ).

Цель и задачи. Определение соотношения лимфоцитов разных популяций, выбранных в качестве предполагаемых иммунологических маркеров, установление взаимосвязи между уровнем содержания этих клеток в периферической крови и стадией опухоли в молочных железах.

Материалы и методы. Исследовали венозную кровь 95 пациенток ГБУЗ «Республиканский Онкологический Диспансер» (г. Петрозаводск), имеющих гистологически подтвержденный РМЖ: ст. I – 20, ст. II – 30, ст. III – 45. В качестве контроля использовали кровь 30 небеременных женщин, сопоставимых по возрасту, данным анамнеза и не имеющих онкологических заболеваний. Субпопуляции мононуклеарных клеток периферической крови выявляли методом непрямой иммунофлуоресценции с использованием моноклональных антител, специфичных к дифференцировочным антигенам (CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD25, CD95) (Sigma, США). Оценивали относительное количество CD-позитивных клеток от общего числа лимфоцитов. Для сравнения выборок использовали непараметрический U-критерий Уилкоксона–Манна–Уитни.

Результаты. Согласно результатам иммунофенотипирования клеток периферической крови ст. I РМЖ характеризовалась статистически значимым повышением относительного количества CD16-клеток: $17,06 \pm 0,74$, по сравнению с контрольной группой ($13,15 \pm 0,94$). Одновременно происходило снижение относительной численности CD3 и CD4-клеток (от $62,74 \pm 1,98$ контроля до $53,65 \pm 1,20$ и от $39,94 \pm 2,79$ контроля до $34,05 \pm 0,77$ соответственно), и повышение уровня CD8-клеток (до $36,17 \pm 0,84$ против $31,98 \pm 1,62$ контроля), что отражается на соотношении $CD4^+/CD8^+$ и свидетельствует о наличии хелперного дефекта. По мере развития опухоли, начиная со II стадии, у больных отмечалось прогрессирование иммунодефицитного состояния: относительное количество CD3 и CD4-клеток достоверно снижалось. Содержание $CD4^+CD25^+$, напротив, в крови увеличивалось: $8,01 \pm 0,11$ для больных III стадией РМЖ. У здоровых женщин данный показатель составил $4,11 \pm 0,48$. Содержание CD20-клеток в крови оставалось без изменения. Количество CD95-лимфоцитов достоверно повышалось по мере прогрессирования опухоли.

Заключение. Не смотря на то, что изменение соотношения субпопуляций Т-лимфоцитов дает только ориентировочные выводы, в первую очередь, акцентируя внимание на прогрессировании онкопатологии, использование Т-лимфоцитов в качестве дополняющих диагностических и прогностических иммунологических маркеров при раке молочной железы позволит повысить точность постановки диагноза и эффективность лечения, основываясь на индивидуальном иммунологическом «портрете» пациентки.

Исследование проведено в рамках выполнения государственного задания Минобрнауки России, проект 6.5111.2017/БЧ.

ВАРИАНТЫ ИММУННОГО РЕАГИРОВАНИЯ ПРИ РАКЕ ПОЧКИ

Борисов А.Г., Савченко А.А., Кудрявцев И.В.,
Модестов А.А., Тоначева О.Г., Мошев А.В.

Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера, Красноярск, Россия

Механизмы нарушения противоопухолевого иммунитета многообразны и связаны в конечном итоге с невозможностью распознавать и уничтожать опухолевые клетки. Стратификация больных в подгруппы со сходными показателями иммунного реагирования является важнейшим шагом в реализации индивидуального подхода к лечению онкологических больных.

Цель. Используя кластерный анализ, описать варианты иммунного реагирования у больных почечноклеточным раком (ПКР) и дать характеристику течения заболевания в этих группах.

Обследовано 63 больных ПКР в возрасте 40-55 лет проходивших лечение в КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер имени А.И. Крыжановского». Диагноз у всех больных верифицирован гистологически. В качестве контрольной группы были обследованы 78 практически здоровых людей аналогичного возрастного диапазона. Исследование фенотипа лимфоцитов крови проводили методом проточной цитометрии на проточном цитофлуориметре FC-500 (Beckman Coulter, USA). Использовалось пятицветное иммунофенотипирование по панелям: CD3/CD4/CD8/CD45/CD25 и CD3/CD19/CD16+56/CD45/HLA-DR. Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларацией (2013 г.). Кластеризацию осуществляли методом одиночной связи (Single linkage). Число кластеров определяли на основании вычисления величин Евклидовых расстояний между среднегрупповыми величинами.

При изучении иммунологических данных обнаружена большая вариабельность иммунологических показателей, несмотря на то, что у больных ПКР определяется лимфопения за счет снижения числа Т-, NK- и NKT-лимфоцитов, при индивидуальном анализе практически у 45% больных не выявлены отклонения от нормы.

Последующий кластерный анализ основных иммунологических показателей позволил выделить четыре кластера, определенных нами как варианты иммунного ответа. Первый с увеличением числа клеток врожденного иммунитета и прежде всего, нейтрофилов выявлен в 4,76%. Второй с увеличением числа цитотоксических Т-лимфоцитов и иммуноглобулинов класса G диагностирован в 19,05% случаев. Третий со снижением иммуноглобулинов, нейтрофилов и Т-лимфоцитов – иммунодефицитный в 31,75%. Наиболее распространенным оказался ареактивный вариант (44,44%), иммунологические показатели которого у больных ПКР не выходили за контрольный диапазон. Анализируя особенности клинического течения в этих группах установлено, что только у больных ПКР T1-2N0M0, встречался вариант иммунного реагирования с активацией врожденного иммунитета. Помимо этого у больных этой группы диагностировались варианты с активацией адаптивного иммунитета (19,35%), иммунодефицитный (32,26%) и ареактивный (38,71%). У больных ПКР T3N0M0 так же в 2/3 случаях диагностировался иммунодефицитный (21,05%) и ареактивный (47,37%) вариант иммунного реагирования и в 31,58% случаях активация адаптивного иммунитета. У больных ПКР T3-4N0-1M1

выявлен только иммунодефицитный и ареактивный вариант реагирования соответственно 46,15 и 53,85%

Таким образом, установлено, что показатели, характеризующие различные звенья иммунной системы при ПКР, характеризуются значительным разнообразием значений. Использование кластерного анализа позволило выделить у больных ПКР 4 иммунотипа, определяемых различным состоянием врожденного и адаптивного иммунитета. Эти иммунотипы можно рассматривать как различные патогенетические варианты течения ПКР. Неблагоприятными при этом является иммунодефицитный и, несмотря на не тяжелое течение, — ареактивный иммунотип. Иммунотипы с активацией адаптивного и врожденного иммунитета являются наиболее благоприятными. Стратификация пациентов при ПКР по иммунотипам может лечь в основу при назначении иммуностимулирующих препаратов, так как позволит повысить эффективность лечения больных ПКР и реализует персонализированные подходы к диагностике и лечению нарушений функции иммунной системы.

УЧАСТИЕ CD4⁺CD39⁺Т-КЛЕТОК В ФОРМИРОВАНИИ ИММУННОЙ СУПРЕССИИ У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

Жулай Г.А.¹, Олейник Е.К.¹, Чуров А.В.¹,
Кравченко П.Н.¹, Романов А.А.², Олейник В.М.¹

¹ ФГБУН Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия

² ГБУЗ «Республиканский онкологический диспансер», Петрозаводск, Россия

В настоящее время в онкоиммунологии уделяется особое место изучению молекулы эктонуклеозидтрифосфат дифосфогидролазы-1 (ENTPD1, CD39). CD39 совместно с CD73 участвует в генерации внеклеточного аденозина, оказывающего иммуносупрессорное действие через A2A-рецепторы и способствующего развитию опухоли. Колоректальный рак (КРР) является одним из наиболее распространенных типов злокачественных новообразований, однако роль аденозин-A2AR иммуносупрессорного механизма в его развитии до конца не изучена.

Цель. Оценка роли CD4⁺Т-клеток, экспрессирующих CD39, в формировании иммунной супрессии у больных КРР.

Материалы и методы. Обследовано 42 больных КРР и 30 здоровых доноров. Уровень мРНК CD39, CD73, A2AR определяли методом ПЦР в реальном времени. Проведен анализ фенотипов клеток периферической крови, а также опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов (ОИЛ), выделенных из клинических образцов опухолевой ткани (n = 5). Лимфоциты крови анализировали до начала терапии. Экспрессию CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, CD25, CD127, FoxP3, CD39 оценивали методом проточной цитометрии. Достоверность различий между группами рассчитывали по критерию Манна–Уитни при уровне значимости p < 0,05, для выявления и оценки характера связи между признаками использовали коэффициент корреляции Спирмена. Данные представлены в виде M±SD.

Результаты. Для оценки активации аденозин-A2AR иммуносупрессорного механизма у больных КРР определяли уровень мРНК генов CD39, CD73, A2AR. Показано, что у больных КРР содержание мРНК CD39 в лейкоцитах увеличивается в процессе развития заболевания, тогда как для CD73 значительных различий по сравнению с контролем не найдено. Наряду с этим для больных с поздними

стадиями КРР (III-IV ст.) отмечено повышение экспрессии мРНК A2AR, что может свидетельствовать об активации аденозин-A2AR иммуносупрессорного механизма.

На поздних стадиях развития КРР (III-IV ст.) наблюдалось накопление периферических CD4⁺CD39⁺Т-клеток. Среди ОИЛ количество этих клеток было в 4 раза выше (p < 0,05), чем в крови тех же больных. Увеличение числа CD39⁺ клеток среди ОИЛ наблюдалось и в популяции CD3⁺CD4⁺Т-клеток. При этом доля CD4⁺CD39⁺ клеток была выше в опухолевой ткани.

В работе проводили анализ популяционного состава периферических лимфоцитов для определения связи с CD4⁺CD39⁺Т-клетками у больных КРР. Были отмечены изменения, вероятно, свидетельствующие о развитии вторичного иммунодефицита, особенно в отношении Т-лимфоцитов. У больных КРР по сравнению с контролем снижено число В-лимфоцитов, как на начальных стадиях развития заболевания, так и на поздних (p < 0,05). В отношении NK-клеток у больных КРР достоверных различий по сравнению с контролем не выявлено. Изменения количества CD3⁺Т-лимфоцитов отмечены для больных с III-IV стадиями КРР. На всех стадиях развития КРР наблюдалось пониженное число CD4⁺Т-хелперов (p < 0,05) и активированных CD4⁺CD25⁺Т-клеток (p < 0,05), а также повышенное количество CD8⁺ЦТЛ (p < 0,05). В результате оценки связи изменений в популяционном составе лимфоцитов и CD4⁺CD39⁺Т-клеток у больных КРР обнаружена отрицательная корреляция между количеством CD3⁺CD4⁺Т-хелперов и числом CD4⁺CD39⁺Т-клеток (r = -0,60, p = 0,0003), а также между CD3⁺CD19⁺В-клеток и CD4⁺CD39⁺Т-клеток (r = -0,40, p = 0,044).

Важную роль при канцерогенезе играет субпопуляция регуляторных CD4⁺Т-клеток (Treg). В крови больных КРР при анализе CD4⁺CD25⁺CD127^{lo/-} Tregs наблюдали усиление уровня экспрессии молекулы CD39. Экспрессия CD39 у Treg-клеток увеличивается уже на начальных этапах (I-II ст.) развития опухоли (55,24±4,2%) по сравнению с контролем (41,16±3,1%; p < 0,05) и достигает максимальных значений у больных с более поздними стадиями КРР (67,95±3,1%; с контролем p < 0,001, с I-II стадиями p < 0,05). Тогда как клетки с фенотипом не характерным для Treg, CD4⁺CD25⁺ и CD4⁺CD25⁺Т-клетки, не отличались такой закономерностью. Кроме того, у больных КРР обнаружена положительная корреляция между экспрессией CD39 и транскрипционного фактора FoxP3 на CD4⁺Т-клетках (r = 0,47, p < 0,006). Среди ОИЛ CD4⁺CD25^{hi} Treg-клетки также отличались от циркулирующих в периферической крови более высокой экспрессией эктонуклеотидазы CD39. Повышенная экспрессия этой молекулы наблюдалась и у нерегуляторных клеток с фенотипами CD4⁺CD25⁺ и CD4⁺CD25⁺. Кроме того, при оценке связи экспрессии молекулы CD39 на Treg-клетках с уровнем мРНК A2AR, в крови больных КРР обнаружена положительная корреляция (r = 0,45, p < 0,05).

Заключение. Таким образом, повышенный уровень экспрессии молекулы CD39 как на периферии, так и среди ОИЛ, а также изменение мРНК A2AR лейкоцитов могут говорить об активации аденозин-A2AR иммуносупрессорного механизма у больных КРР. Полученные результаты, возможно, свидетельствуют об участии и важной роли Treg-клеток в этом механизме.

Финансовая поддержка: РФФИ (проект № 16-34-00970), бюджетная тема № 0221-2014-0040.

ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА И УРОВНИ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКОГО

Златник Е.Ю., Бахтин А.В., Новикова И.А., Шульгина О.Г., Триандофилиди Е.И.

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения РФ, Ростов-на-Дону, Россия

Введение. Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) считаются в настоящее время одним из важных механизмов метастазирования злокачественных опухолей, но они же могут нести опухолевые антигены и потенциально индуцировать иммунный ответ. Сведения об их возможной роли в процессе «иммуноредактирования» опухоли единичны, хотя она может быть значимой для уточнения прогноза заболевания и оптимизации лечения больных.

Цель. Изучить взаимосвязи между характеристиками клеточного иммунитета и количеством ЦОК у больных раком легкого при различном гистогенезе и распространенности опухолей.

Материалы и методы. Изучали уровни ЦОК с помощью системы CellSearch[®], основанной на экспрессии клетками молекул ЕрсАМ, и показатели клеточного иммунитета с помощью проточного цитофлюориметра FACSCantoII (BD) у 30 больных мелкоклеточным (МРЛ) и немелкоклеточным (НМРЛ – аденокарциномой) раком легкого III и IV стадии до начала лечения; средний возраст $62 \pm 1,3$ года. Из 20 больных МРЛ у 13 (65%) была III, у 7 (35%) – IV стадия заболевания; в группе с НМРЛ у всех 10 была диагностирована IV стадия. Статистическую обработку выполняли с использованием параметрических и непараметрических методов. Вычисляли среднюю, медиану, ошибку средней, достоверность различий, коэффициент корреляции (r); силу прямых и обратных корреляционных связей по критерию Пирсона.

Результаты. ЦОК были обнаружены у 27 больных (90%) в количестве от 1 до 6888, причем в группе МРЛ ЦОК выявлены у 17 больных (85%) в количестве 0–6888, среднее значение составило 655,7, медиана 38,5; в группе НМРЛ ЦОК – у всех 10 пациентов в количестве 1–486, среднее значение составило 57,2, медиана 5,0. При сравнении показателей иммунного статуса ЦОК⁺ больных РЛ разного гистогенеза, установлено, что их наличие при МРЛ сопровождалось более высоким содержанием CD3⁺CD4⁺ клеток с маркерами поздней активации (CD95⁺), а также CD3⁺CD4⁺ клеток с иммунофенотипом клеток «памяти» НМРЛ ($84,4 \pm 2,4$ и $72,2 \pm 3,7\%$; $73,2 \pm 4,1$ и $64,7 \pm 3,5\%$ соответственно, $p < 0,05$). У этих же больных уровень CD3⁺CD8⁺HLA-DR⁺ лимфоцитов был выше, чем у больных НМРЛ ($29,2 \pm 4,2$ и $19,8 \pm 2,2\%$ соответственно, $p < 0,05$). У больных МРЛ обнаружены более низкие показатели индекса CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ ($1,4 \pm 0,1$ и $1,9 \pm 0,3$ соответственно, $p < 0,05$), активированных CD3⁺CD4⁺CD38⁺ лимфоцитов, ($19,9 \pm 2,3$ и $27,8 \pm 3,5\%$ соответственно, $p < 0,05$), и NK-клеток, способных к продукции интерферона-гамма (CD16dimCD56bright) ($7,1 \pm 1,5$ и $15,3 \pm 3,8\%$ соответственно, $p < 0,05$). При анализе данных в зависимости от стадии МРЛ был обнаружен в 36 раз более низкий уровень ЦОК при III стадии ($44,6 \pm 18,7$) по сравнению с IV ($1616 \pm 952,7$). Наряду с этим отмечено более высокое количество NKT- и В-лимфоцитов у больных IV стадии по сравнению с III стадией и более низкие уровни активированных Т-лимфоцитов как среди

CD3⁺CD4⁺, так и среди CD3⁺CD8⁺ клеток, а также с маркерами ранней (CD38, CD25) и поздней (CD95, HLA-DR) активации. Кроме того, при IV стадии ниже, чем при III, было количество активированных NK-клеток, экспрессирующих Gzanzyme В. Итак, наличие ЦОК у больных МРЛ сопровождается более низким уровнем активированных Т-лимфоцитов в субпопуляциях CD4⁺ и CD8⁺ и активированных натуральных киллеров, т.е., депрессией Т- и NK-звеньев иммунной системы. Результаты корреляционного анализа показали, что при МРЛ отмечены прямая связь с уровнем ЦОК количества наивных CD4 клеток ($r = 0,5$) и обратная – с уровнем CD3⁺CD4⁺ клеток памяти ($r = -0,6$) и активированных (CD3⁺CD4⁺CD95⁺) лимфоцитов ($r = -0,7$). НМРЛ характеризуется прямой связью уровня ЦОК с процентом CD3⁺, CD3⁺CD8⁺ клеток ($r = 0,8$) и сильной обратной – с количеством CD3⁺CD8⁺ клеток памяти ($r = -0,7$). Показана корреляция уровня ЦОК с количеством активированных CD3⁺CD4⁺CD25⁺ лимфоцитов ($r = 0,6$) и CD3⁺CD4⁺HLA-DR⁺ ($r = 0,9$), несмотря на обратную корреляцию с общим уровнем CD4⁺ клеток ($r = -0,7$) и ее отсутствие с процентом Tregs. Уровень ЦОК при НМРЛ обратно коррелирует с активностью фагоцитарного звена. Как при МРЛ, так и при НМРЛ уровень ЦОК обратно коррелирует с количеством Т-лимфоцитов памяти, хотя при МРЛ она выявлена с CD4⁺ ($r = -0,6$), а при НМРЛ – с CD8⁺ клетками ($r = -0,7$).

Заключение. При МРЛ и НМРЛ выявлен ряд корреляций уровней ЦОК с показателями иммунного статуса преимущественно минорными лимфоцитарными субпопуляциями: активированными Т-лимфоцитами, Т-клетками памяти, функционально активными NK-клетками.

Работа поддержана грантом РФФИ № 16-34-00244мол_а «Оценка взаимного влияния уровня циркулирующих опухолевых клеток и параметров иммунного статуса у больных раком легкого».

ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РИСКА РАЗВИТИЯ МИОМЫ МАТКИ У КОРЕННЫХ ЖИТЕЛЬНИЦ г. ТАШКЕНТА

Исанбаева Л.М., Мусаходжаева Д.А.

Ташкентский институт усовершенствования врачей, Республиканский научный центр иммунологии Министерства здравоохранения РУз, Ташкент, Узбекистан

Миома матки – одно из достаточно распространенных доброкачественных новообразований женской половой сферы. Опухоль растет как генетически аномальный клон клеток, который в результате произошедшей в нем мутации приобретает способность нерегулируемого роста. Значительную роль в предрасположенности к опухолям играют антигены гистосовместимости системы HLA. **Целью** исследования явилось изучение антигенов гистосовместимости I класса у женщин – коренных жительниц Ташкента.

Обследованы 177 женщин в возрасте от 20 до 55 лет с диагнозом миома матки (основная группа). Обследованные женщины являлись лицами узбекской национальности, с учетом родословной в трех поколениях согласно материалам VII Уоркшопа по обсуждению антигенов системы HLA. Иммуногенетические исследования (типирование системы HLA для выявления антигенов I класса

А, В, Сw), выполнены в РНЦ иммунологии Министерства здравоохранения РУз. HLA-фенотип устанавливали с помощью стандартного микролимфоцитотоксического теста с использованием панели HLA-антисывороток Санкт-Петербургского НИИ гематологии и переливания крови. Контрольную группу составили практически здоровые 300 женщин, принадлежащие к узбекской этнической группе. При обследовании общей группы женщин с миомой матки экспрессировались 35 HLA-антигенов I класса: 13 антигенов по локусу HLA-A, 17 антигенов по локусу HLA-B и 5 антигенов по локусу HLA-Cw. Было выявлено, что по локусу HLA-A наиболее часто был зарегистрирован антиген HLA-A28 (в 20,3% в основной группе против 4,9% в контрольной; $p < 0,05$). С наименьшей частотой экспрессировался антиген HLA-A2 (в 20,9% в основной группе против 36,9% в контрольной; $p < 0,01$). Следует отметить, что в основной группе регистрировались антигены в следующем проценте случаев: A25 – 5,6%, A29 – 4,5%, A24 – 2,8%, A21 – 2,2%, A23 – 1,6%, тогда как в контрольной группе эти антигены не выявлялись вовсе. При исследовании локуса HLA-B у больных с миомой матки по сравнению с контрольной группой наиболее часто (при $p < 0,001$) встречались антигены HLA-B8 (в 14,6% против 4,7% в контрольной группе), B22 (в 12,4% в основной группе против 1,3% в контрольной). Наименее часто встречался антиген HLA-B35 (в 14,1% в основной группе против 27,2% в контрольной; $p < 0,01$). Анализ данных по распределению антигенов HLA-Cw-локуса в основной группе показал, что наиболее часто по сравнению с контрольной группой встречался антиген HLA-Cw5 (в 9,6% в основной группе против 2,3% в контрольной; $p < 0,05$). Антиген HLA-Cw4 определялся значительно реже, чем в контрольной группе (в 15,8% в основной группе против 36,2% в контрольной; $p < 0,001$). При измерении силы ассоциации HLA-антигенов с заболеваниями нами выявлена истинность связи в основной группе больных с миомой матки для следующих антигенов: B22 ($\chi^2 = 26,7$; EF = 0,112; OP = 10,5; $pc < 0,001$), B8 ($\chi^2 = 17,9$; EF = 0,108; OP = 3,8; $pc < 0,001$), что определило положительную ассоциацию этих маркеров с риском развития миомы матки. Аддитивная тенденция риска развития данного заболевания отмечалась у антигенов A28 ($\chi^2 = 13,5$; EF = 0,806; OP = 4,8; $pc = n/d$), Cw5 ($\chi^2 = 12,3$; EF = 0,074; OP = 4,4; $pc = n/d$). Отрицательная ассоциация с риском развития миомы матки была установлена для Cw4 ($\chi^2 = 19,7$; PF = 1,7; OP = 0,3; $pc < 0,001$), A2 ($\chi^2 = 12,6$; PF = 1,3; OP = 0,4; $pc < 0,01$), B35 ($\chi^2 = 12,6$; PF = 1,2; OP = 0,4; $pc < 0,01$), что подтверждает протективный эффект данных антигенов.

Таким образом, проведенные нами исследования в группе больных с миомой матки позволили установить положительную ассоциацию и риск развития миомы матки у женщин – коренных жительниц Ташкента, имеющих антигены HLA-B8, B22 и A28. Отрицательная ассоциация с риском развития миомы матки выявлена у носительниц антигенов HLA-A2, B35, Cw4, которые выполняют протективную функцию. Ранняя верификация антигенов гистосовместимости у коренных жительниц Ташкента позволит прогнозировать риск развития миомы матки и провести ряд профилактических мероприятий, направленных на предотвращение роста миомы.

КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД К ОЦЕНКЕ ПРОФИЛЯ ИЗМЕНЕНИЙ КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ФОРМАХ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

Курмышкина О.В., Волкова Т.О., Щеголева Л.В., Ковчур П.И.

ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», Петрозаводск, Россия

Введение. Основные механизмы, стимулируя которые развивающаяся опухоль может оказывать системное негативное влияние на иммунную систему, направлены на: 1) расширение популяций лейкоцитов с супрессорной активностью (например, Т-регуляторных клеток); 2) усиление процессов, приводящих к пониженной активности или истощению пула эффекторных клеток (например, через индукцию их апоптоза); 3) снижение численности (и активности) клеток-компонентов врожденной системы противоопухолевого надзора. В случае рака шейки матки (РШМ), ввиду его вирус-ассоциированной природы, высока вероятность обнаружить проявления этих механизмов в системной циркуляции на ранних этапах развития патологии, однако, далеко не все из них исследованы к настоящему времени.

Цель и задачи. Охарактеризовать профиль изменений в иммунной системе пациенток с доклиническими формами РШМ на основе следующих параметров: 1) экспрессии маркеров апоптоза (CD95/Fas, Annexin V) в основных популяциях лимфоцитов крови – CD4 и CD8 Т-клетках и естественных киллерах (NK); 2) численности регуляторных CD4 и CD8 клеток (Tregs) по экспрессии маркеров CD25, CD127, FoxP3; 3) численности субпопуляций NK-клеток (в том числе, регуляторных NKreg), а также Т-лимфоцитов с NK-подобным фенотипом (по относительному уровню CD3, CD16 и CD56), и выявить взаимосвязи между данными параметрами с целью предложить возможные механизмы, задействованные в ранних этапах прогрессии патологии.

Материалы и методы. Иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови было проведено методом проточной цитофлуориметрии на приборе MACSQuant Analyzer (Miltenyi Biotec); образцы крови были получены от 57 женщин с диагнозом цервикальная интраэпителиальная неоплазия (ЦИН) 3 степени (включая рак *in situ*) или микроинвазивный рак шейки матки (стадия IA1) непосредственно перед операцией, а также от 30 здоровых женщин, составивших группу контроля.

Результаты. Увеличение доли Т-лимфоцитов, связывающих Annexin V и ко-экспрессирующих CD95/Fas, в крови больных РШМ (относительно контрольной группы, $p < 0,5$) указывает на повышенный уровень спонтанного апоптоза Т-клеток, с возрастанием вклада Fas-зависимого пути. При дифференцированном анализе CD4 и CD8 популяций выявлен различный характер изменений экспрессии CD95, свидетельствующий о большей подверженности апоптозу CD8 Т-клеток в группе больных. Связывание Annexin V с CD3(-) популяцией также увеличивалось в группе пациенток с РШМ ($p < 0,5$), при этом различий в экспрессии CD95 на NK-клетках между обследованными группами не обнаружено ($p > 0,5$). У пациенток с РШМ наблюдали повышение численности как CD4⁺Tregs, так и CD8⁺Tregs, и одновременно снижение соотношения CD3CD8/Treg. По общей численности циркулирующих NK-клеток анализируемые группы не различались, но для субпопуляций NKreg-клеток и NK-подобных Т-лимфоцитов выявлена тенденция ($p > 0,5$) к снижению

их относительного количества, сопровождаемая изменением соотношения CD56^{dim}/CD56^{bright} NK-клеток в группе больных. Сравнение полученных данных для пациенток с пре-инвазивным (*in situ*) и микроинвазивным раком позволяет предполагать усиление наблюдаемых отклонений при дальнейшей прогрессии неоплазии, но достоверных различий между этими подгруппами не установлено. Результаты поиска корреляций между 80 выбранными фенотипическими параметрами позволяют говорить о том, что при развитии инвазивного РШМ происходит согласованное увеличение экспрессии маркеров иммунорегуляторных CD4/CD8 клеток, становятся более выраженными взаимосвязи между Tregs, уровнем экспрессии CD95 на CD4 и CD8 Т-клетках и апоптозом, что может иметь непосредственное отношение к механизму формирования патологических отклонений в иммунной системе.

Заключение. Индукция инвазивного роста при РШМ поддерживается широким спектром нарушений, при этом, системные изменения баланса регуляторных клеток врожденного и адаптивного иммунитета могут играть ключевую роль и должны рассматриваться в качестве объекта более детального исследования при разработке новых методов иммунотерапии.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект №16-34-60019).

ОПЫТ ФЕНОТИПИРОВАНИЯ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА У БОЛЬНЫХ С МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ

Моруга Р.А.¹, Родкина Г.Н.¹, Путков С.Б.¹,
Казаков С.П.^{1,2}

¹ ФГКУ «Главный военный клинический госпиталь им. Н.Н. Бурденко» Министерства обороны РФ, Москва, Россия

² ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Цель. Проведение сравнительных исследований костного мозга на проточном цитофлуориметре и оценка фенотипических особенностей популяций плазматических клеток пациентов с множественной миеломой (ММ), для его анализа и использования полученных результатов в диагностической лабораторной практике.

Материалы и методы. Для исследования использовались пунктат костного мозга, полученный от 10 пациентов с подозрением на ММ на разных стадиях заболевания и лечения. Фенотипически оценивалась популяция клеток, предполагаемая как миеломные плазматические клетки, в результате чего был получен фенотип, как правило, присутствующий на опухолевых миеломных клетках: CD45^{dim}CD19⁺CD38⁺CD138⁺CD56^{dim}. А также исследовалось относительное количество внутриклеточного и мембранного содержания легких цепей иммуноглобулинов – Карра⁺ и Lambda⁺, с применением технологии пермобилизации клеток. Образцы сыворотки крови и мочи пациентов исследовались методом электрофореза, иммунофиссации, нефелометрии с определением количества белка в сыворотке и моче, фенотипа миеломы – тяжелых с общими и свободными цепями, количества свободных и общих легких цепей. Костный мозг больных так же направлялся на исследование иммуногистохимическими и цитогенетическими методами.

Результаты. От пациентов с установленным диагнозом ММ, в процессе исследования был выявлен материал, со-

державший легкие цепи фенотипа Карра⁺ и Lambda⁺, неоднородный по степени их экспрессии. В ходе дальнейших исследований были получены три группы пациентов.

Первая: с положительными результатами иммунофиссации по IgG, Lambda в сыворотке крови, повышенным содержанием общих легких цепей Lambda, повышенное количество, как клеток костного мозга, несущих легкие цепи Lambda⁺ медиана – 93,2% (88,7-97,8%) в исследуемой популяции и средней плотности данного рецептора на клетках медиана – 22,7 (21,7-23,7).

Вторая – с аналогичной тенденцией по IgG, Карра и клетками Карра⁺ медиана – 89,5% (83,3-95,7) и невысокой плотностью экспрессии рецепторов медиана – 4 (2,8-5,2).

Третья – в данной группе методом иммунофиссации сыворотки крови выявлялся фенотип IgG, Lambda или IgG, Карра и повышенное количественное содержание данных легких цепей. Однако в этой, группе по результатам проточной цитометрии, отмечалось невысокое относительное содержание клеток, несущих легкие цепи медиана – 3,25% (3,2-3,3%), и невысокой экспрессией плотности рецепторов медиана – 3,2 (1,9-4,5).

У других пациентов, не имевших диагноза ММ, в ходе исследования костного мозга определялся значительно меньший процент количества плазматических клеток экспрессирующих легкие цепи Карра⁺ или Lambda⁺ 5,7% (0,5-11%) клеток, а средняя плотность экспрессии по данным маркерам, не превышала – 1,0.

Также все обследованные пациенты были распределены согласно прогностической классификации предлагаемой клиникой Mayo (США, 2013 г.). Было отмечено повышение количества плазматических клеток в миелограмме у пациентов с более высоким риском прогрессии ММ, по данным, полученным цитогенетическими методами исследования. Было проведено распределение пациентов по группам риска и прогнозу злокачественности. Так высокий прогностический риск по цитогенетическому исследованию и классификации клиники Mayo – у 1 пациента с 76,4% плазматических клеток в костном мозге. Промежуточный риск – у 1 пациента с 46,6% плазматических клеток. Стандартный риск выявлен у 4 пациентов с 36% (9,6-63,6) плазматических клеток.

Выводы. По результатам проведенных исследований нами были сформированы три, выше описанных, группы фенотипа «плазматических миеломных» клеток и прослежен ряд тенденций.

Дальнейшая работа в данном направлении, по нашему мнению, может оказаться необходимой при оценке стадии и прогноза заболевания, а также начала лечения и выживаемости пациентов с множественной миеломой, при сравнительной характеристике фенотипа и генотипа.

РОЛЬ ГИПЕРВИРУЛЕНТНЫХ *H. PYLORI*, ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА ЦИТОКИНОВ В ИММУНОПАТОГЕНЕЗЕ ХРОНИЧЕСКОГО ГАСТРИТА И ИХ ВЗАИМОСВЯЗЬ С КАНЦЕРОГЕНЕЗОМ

Москалев А.В., Рудой А.С.

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

На протяжении ряда лет, опираясь на данные собственных исследований и литературы, изучали вопросы иммунопатогенеза острого и хронического гастрита (ХГ), язвенной болезни. Однако вопросы взаимосвязи хронического атрофического гастрита (ХАГ) с риском развития

аденокарциномы желудка оставались незатронутыми. Установлено, что риск развития рака желудка возрастает экспоненциально в зависимости от стадии и степени тяжести атрофического гастрита. В настоящее время считаются доказанными различия канцерогенного потенциала штаммов *H. pylori*. Считается, что сочетание вирулентности микроорганизма и генетической восприимчивости хозяина ведет к более тяжелому хроническому воспалению и более быстрому прогрессированию рака желудка. Главной детерминантой выраженной степени воспаления является содержание фактора вирулентности CagA. В частности, значительная часть штаммов *H. pylori* содержит CagA-ген, являющийся маркером цитотоксичности и отвечающий за выработку так называемого CagA белка. Метаанализ 16 исследований по принципу «случай-контроль», показал, что среди *H. pylori*-инфицированных пациентов инфицирование CagA-позитивными (CagA⁺) штаммами в 1,64 раз увеличивает риск возникновения рака желудка. Такие бактериальные факторы вирулентности как CagA-формы с множественными EPIYA-C сегментами и штаммы с harbor VacA сигнальной областью типа s1 и mid-region m1 также связаны с повышенным риском рака желудка.

В последние годы широко изучена роль и генетического полиморфизма интерлейкинов (IL) в патогенезе желудочного канцерогенеза. Прежде всего, описаны IL-1 β , антагонист рецептора IL-1 (IL-1ra), IL8, IL-10 и TNF α , играющие важную роль в воспалительной реакции на *H. pylori* и воспаление СОЖ, что приводит к атрофии слизистой оболочки и прогрессированию рака желудка. Подтверждена ассоциация риска развития рака желудка с генотипами IL-1 (IL-1B-511 T, IL-1B-31 T, и генотипом $\times 2/\times 2$ антагониста рецептора IL-1 с отношением шансов 2,5; 2,6 и 3,7 для развития рака желудка у гомозиготных носителей этих аллелей по сравнению с не носителями. Обнаружена связь IL-1 β и IL-1RN $\times 2$ с риском возникновения рака желудка. Установлен повышенный риск рака желудка для носителей IL-RN $\times 2$, специфичный для дистального рака. Лица, которые являются носителями TNF α -308A, имеют повышенный риск развития рака желудка. Также доказано, что функциональные полиморфизмы Toll-like рецепторов 4 типа (TLR4), участвующих в распознавании *H. pylori*, лежат в основе избыточного иммунного ответа и связано с повреждением СОЖ. В частности, носители TLR4⁺ 896A > G полиморфизма имеют более тяжелую атрофию желудка и степень воспаления, а также повышенный риск развития некардиального рака желудка.

Таким образом, иммунопатогенез канцерогенеза атрофического гастрита является многогранным, в котором существенную роль играют генетическая предрасположенность, гипервирулентность *H. pylori* и выраженность воспалительной реакции в СОЖ.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ РАЗВИТИЯ МУКОЗИТОВ В ПОСТТРАНСПЛАНТАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ У БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ

Назарова Е.Л., Минаева Н.В., Хоробрых М.Н., Зорина Н.А., Шардаков В.И., Демьянова В.Т., Пармонов И.В.

ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», Киров, Россия

Введение. Высокодозная химиотерапия с трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых

клеток (ауто-ТГСК) способствует увеличению общей выживаемости и удлинению периода бессобытийной выживаемости пациентов с множественной миеломой (ММ). Одним из осложнений высокодозного кондиционирования в период гипоплазии кроветворения является токсическое повреждение слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта. Мукозиты проявляются болевым синдромом разной степени выраженности, диспепсией, присоединением тяжелых инфекционных и, в ряде случаев, жизнеугрожающих осложнений, терапия которых увеличивает расходы на лечение и сроки пребывания больных в стационаре. К независимым факторам риска развития тяжелых мукозитов при ММ относят гендерную принадлежность пациента, нарушения функции почек и используемые режимы кондиционирования. В результате проведенных Е.А. Coleman et al. (2015) исследований, было убедительно показано, что генетические особенности пациента, в частности наличие полиморфизма генов иммунного ответа, может также играть важную роль в патогенезе данных осложнений в качестве дополнительного фактора.

Цель и задачи. Определить участие полиморфизма генов иммунного ответа в развитии мукозитов в раннем периоде после аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у больных множественной миеломой.

Материалы и методы. Генотипирование 20 полиморфных локусов 14 генов иммунного ответа *TLR2*, *TLR3*, *TLR4*, *TLR6*, *TLR9*, *IL-1 β* , *IL-2*, *IL-4*, *IL-6*, *IL-10*, *IL-17A*, *CD14*, *TNF α* , *FCGR2A* проводили методом полимеразной цепной реакции с аллель-специфичными праймерами и электрофоретической детекцией продуктов реакции в агарозном геле у 20 пациентов с ММ и ауто-ТГСК. Степень выраженности мукозитов оценивали на основании критериев СТСАЕ (Common Terminology Criteria for Adverse Events) version 4.0 for Gastrointestinal Events, 2009 [http://www.acrin.org/Portals/0/Administration/Regulatory/STCAE_4.02_2009-09-15_QuickReference_5x7.pdf]. Соответствие распределения генотипов равновесию Харди-Вайнберга, расчет наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности, сравнение частот аллелей и генотипов проводили общепринятыми методами популяционной биометрии. Поиск ассоциаций выявленных гаплотипов с мукозитами различной степени выраженности производили путём сравнения частот аллелей и генотипов между группами больных, используя критерий χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность. Об ассоциации аллелей или генотипов с предрасположенностью к данному осложнению судили по величине отношения шансов (OR) с уровнем статистической значимости результатов $p < 0,05$.

Результаты. Установлено, что у всех пациентов с ММ после ауто-ТГСК отмечалось развитие мукозитов различной степени тяжести. Так, у семи больных (35%) поражение слизистых оболочек соответствовало 0-I степени (согласно СТСАЕ), а у большинства обследованных – 13 человек (65%) – симптомы мукозита отнесены к II-III степеням токсичности. Жизнеугрожающих (IV-V степени) повреждений слизистых оболочек отмечено не было. Среди 20 исследованных полиморфных локусов генов иммунного ответа диагностически значимыми выступили гены *IL-1 β* и *IL-10* в точках мутации -1473 и -819, соответственно. Так, в группе пациентов с более выраженными симптомами мукозита (2 группа) практически отсутствовали мутантные гомозиготы гена *IL-1 β* ($\chi^2 = 6.11$; $p = 0,01$; OR = 19,44; 95%CI: 0,83-455,15) наряду с преоб-

ладанием гомозиготного гаплотипа гена *IL-10* (C-819T) с аллелем «дикого» типа ($\chi^2 = 5,93$; $p = 0,01$; OR = 16,00; 95%CI: 1,27-200,93). Таким образом, найденные отличия характеризовали группу больных ММ с риском развития осложнений в раннем посттрансплантационном периоде, требующих коррекции медикаментозной терапии.

Заключение. Выявленные точечные полиморфизмы в локусах генов *IL-1 β* (G-1473C) и *IL-10* (C-819T) могут играть роль в воспалении и/или обеспечении целостности эпителия слизистых оболочек при повреждающем токсическом действии на них химиотерапевтических препаратов. Определение этих маркеров может служить предиктором развития тяжелых мукозитов у больных ММ в раннем периоде после ауто-ТГСК, позволит индивидуализировать меры профилактики и своевременно скорректировать тактику лечения.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗМЕНЕНИЙ В ПЕРИФОКАЛЬНОЙ ЗОНЕ ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОГО РАКА

Непомнящая Е.М., Шапошников А.В.,
Никипелова Е.А., Рядинская Л.А., Ульянова Е.П.

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения РФ, Ростов-на-Дону, Россия

Введение. В последнее десятилетие отмечаются значительные успехи в изучении этиологии, патогенеза, диагностики и лечения злокачественных новообразований различных локализаций. Однако во всем мире и в России наблюдается постепенный рост заболеваемости. Особый интерес вызывает изучение влияния различных общих и местных коморбидных заболеваний в онкогенезе. Следует выделить базовые изменения в печени: воспаление – фиброз – цирроз – рак. Этому могут способствовать различные факторы: вирусные гепатиты, метаболический синдром, наследственность, возрастные изменения, эндокринно-обменные процессы.

Цель и задачи. Изучить морфологические изменения в перифокальной зоне при гепатоцеллюлярной карциноме.

Материалы и методы. Материал забирали интраоперационно на расстоянии 2-3 см от края опухоли. Гистологическое исследование осуществляли на светооптическом уровне. Иммуногистохимическое исследование проводили с антителами CD3, CD4, CD8 для определения состава лимфоцитарного инфильтрата. Гистологически гепатоцеллюлярная карцинома была представлена трабекулярной и солидной формами.

Результаты. В удаленных неопухолевых участках печени были обнаружены фиброз, некроз, лимфоцитарная инфильтрация, стеатоз, цирроз. Патоморфологические изменения при наличии воспалительных изменений оценивали как активность воспалительного процесса, а также II-III степень фиброза и фибриногенеза. Вокруг портальных вен и в ткани печени была выявлена лимфоцитарная инфильтрация, различной степени выраженности от незначительной до резко выраженной с формированием лимфоидных фолликулов. Полученные результаты о лимфоцитарных инфильтратах в паратуморальной зоне при гепатоцеллюлярной карциноме, согласуются с исследованием выполненном нами ранее, в котором установлено, что обнаружение лимфоцитов происходит как из поступления их из крови, так и из костномозго-

вых предшественников. В лимфоцитарном инфильтрате преобладали преимущественно Т-хелперы – CD3⁺, CD4⁺, а также CD8⁺.

Заключение. Таким образом, выявленные структурные изменения в печени в виде фиброза, лимфоцитарной инфильтрации объективно вписываются в картину гепатокарциногенеза: различные внешние и внутренние туморогенные влияния приводят к фиброзно-некротическим изменениям органов мишени-печени с последующей трансформацией в опухолевый рост. Полученные данные подтверждают необходимость превентивной оценки функционально-морфологического состояния печени для последующего построения схем предопухоловой профилактики.

АНТИТЕЛА К ЭСТРАДИОЛУ И ПРОГЕСТЕРОНУ И РЕЦЕПТОРНЫЙ СТАТУС РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Поленок Е.Г.¹, Глушков А.Н.¹, Антонов А.В.²,
Вержбицкая Н.Е.³, Вафин И.А.⁴, Каменских Н.А.⁴

¹ ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии» СО РАН (Институт экологии человека), Кемерово, Россия

² ГБУЗ КО «Областной клинический онкологический диспансер», Кемерово, Россия

³ ГБУЗ КО ОТ «Кемеровское областное патологоанатомическое бюро», Кемерово, Россия

⁴ ГКУЗ КО «Кемеровский областной центр крови», Кемерово, Россия

Определение индивидуального риска возникновения рака молочной железы (РМЖ) с учетом рецепторного статуса опухоли имеет большое значение в связи с возможностью превентивной терапии (профилактики) селективными модуляторами эстрогеновых рецепторов (LaCroix A. et al., 2010; Cuzick J. et al., 2013; Sestak I., 2014). Одним из подходов к решению этой задачи представляется иммуноанализ антител (АТ), специфичных к стероидным гормонам.

Цель. Выявить ассоциации АТ класса А, специфичных к эстрадиолу и прогестерону (IgA-Es и IgA-Pg), с риском РМЖ с учетом наличия в опухоли эстрогеновых (ER) и прогестероновых (PR) рецепторов.

Материалы и методы. Уровни IgA-Es и IgA-Pg определяли в сыворотке 222 здоровых женщин и 258 больных РМЖ в постменопаузе с помощью ранее описанного неконкурентного иммуоферментного анализа (Глушков А.Н. и соавт., 2011). Наличие ER и PR в опухоли определяли с помощью стандартного иммуногистохимического метода (Петров С.В., 1998). Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Statistica 8.0 (StatSoft Inc., USA). Риски возникновения РМЖ оценивали на основании показателя отношения шансов (OR) с доверительным интервалом (CI) при 95% уровне значимости. Для выявления пороговых значений уровней АТ (cut-off) был проведен ROC-анализ (Наджиан-Тилки К., 2013).

Результаты. С помощью ROC-анализа были определены пороговые значения для АТ к стероидным гормонам: IgA-Es = 3, IgA-Pg = 3. Одновременное отсутствие или низкие уровни IgA-Es < 3 и IgA-Pg < 3 наблюдалось значительно реже у больных ER+PR+РМЖ по сравнению со здоровыми женщинами (38,2% против 56,8% соответственно, $p = 0,0009$). Повышение только уровней IgA-Es > 3 при отсутствии IgA-Pg обнаруживали значительно

чаще у ER+PR+PMЖ (19,1%) и ER+PR-PMЖ (21,4%), чем у здоровых женщин (7,6%) ($p < 0,05$). Наличие только IgA-Pg без IgA-Es не было ассоциировано с PMЖ. Одновременно повышенные уровни обоих АТ значительно чаще встречались только у больных ER+PR+PMЖ в отличие от здоровых женщин (33,3% против 22,1% соответственно, $p = 0,003$).

Заключение. Впервые выявлены ассоциации антител к стероидным гормонам с PMЖ: при одновременном отсутствии IgA-Es и IgA-Pg риск ER+PR+PMЖ снижается ($OR = 0,5$, 95%CI 0,3-0,7), а при одновременном их образовании – повышается ($OR = 2,2$, 95%CI 1,3-3,7). Рекомендуется использовать предлагаемый вариант иммуноанализа антител к стероидным гормонам для определения показателей к превентивному назначению селективных модуляторов эстрогеновых рецепторов.

ОСОБЕННОСТИ МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Стахеева М.Н., Патышева М.Р., Андреева А.А.,
Тарабановская Н.А., Кайгородова Е.В.,
Слонимская Е.М., Чердынцева Н.В.

Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, Томск, Россия

Макрофаги, ассоциированные с опухолью (MAO), занимают одну из центральных позиций в патогенезе злокачественных опухолей (Allavena P., Mantovani A., 2012). Эффекторы острой фазы воспаления M1-макрофаги реализуют цитотоксическую активность, в том числе и в отношении опухолевых клеток (Biswas S., Mantovani A., 2014). M2-макрофаги, активированные по альтернативному пути и опосредующие регенераторную фазу воспаления, в отношении опухоли проявляют рост-стимулирующую, ангиогенез-стимулирующую и иммуносупрессорную активность (Sica A., Mantovani A., 2012). Возможность изменить свойства MAO от M2-типа в сторону M1 делает их перспективным объектом для поиска и создания новых противоопухолевых иммунотерапевтических подходов. Большинство исследований для изучения свойств MAO и модуляции их активности используют модель индукции макрофагов из моноцитов периферической крови (ПК) здоровых доноров (Ambarus S.A. et al., 2012; Toniolo A. et al., 2015; Yang Y. et al., 2016). Вызывает сомнение адекватность подобного подхода, поскольку очевидно, что моноциты больного злокачественным новообразованием находятся в других условиях существования по сравнению со здоровыми лицами. Подобные отличия могут приводить к значимым изменениям базовых свойств моноцитов и изменять чувствительность к стимулам, индуцирующим поляризацию тканевых макрофагов. **Целью** работы явилось сравнение свойств (фенотип, экспрессия генов, продукция цитокинов) моноцитов ПК у больных раком молочной железы (PMЖ) и у здоровых лиц и выявление взаимосвязи с особенностями среды циркуляции (сывороточные цитокины, циркулирующие опухолевые клетки).

Материалы и методы. В исследование включены 18 пациенток с впервые диагностированным инвазивным PMЖ и 6 здоровых женщин. В периферической крови методом проточной цитофлюориметрии были определены M1 (CD68⁺), M2 (CD163⁺) моноциты; моноциты, экспрессирующие рецепторы к IFN γ (CD119⁺) и IL-4(CD124⁺); моноциты, продуцирующие внутриклеточные цитокины IL-1 β и TNF α . В полученной методом

магнитной сепарации фракции моноцитов методом количественной ПЦР в реальном времени была проведена оценка экспрессии генов, ассоциированных с поляризацией M1 (IL-1 β , TNF α) и M2 (CHI3L1, CHI3L2, CHID1, Stabilin1). В качестве важных факторов среды циркуляции оценивали уровень воспалительных (IFN γ , IL-1 β и TNF α) и противовоспалительных (IL-4) цитокинов в сыворотке крови методом ИФА и количество циркулирующих опухолевых клеток с фенотипом EpCAM⁺ (метод проточной цитофлюориметрии).

Результаты. Известно, что характерными особенностями злокачественного процесса являются системное воспаление и циркуляция опухолевых клеток в кровотоке (Ben-Baruch A., 2012; Serrano M.J., 2012). Действительно, в нашем исследовании уровень воспалительных цитокинов IFN γ , IL-1 β и TNF α у больных PMЖ превышал соответствующие показатели у здоровых лиц в 4,48; 4,48 и 1,83 раза ($p = 0,07$; 0,002 и 0,1). Увеличение воспалительных цитокинов в циркуляции сопровождалось статистически значимым снижением экспрессии их генов и уменьшением внутриклеточной продукции IL-1 β в моноцитах ПК по сравнению со здоровым контролем. Однако количество CD68⁺ моноцитов ПК, которые, по мнению ряда авторов, характеризуют M1-популяцию моноцитов, не имело статистически значимых различий у больных PMЖ и у здоровых лиц. Значимым отличием в популяционной структуре моноцитов ПК у больных PMЖ явилось снижение M2 (CD163⁺) популяции и пула CD124⁺ моноцитов, экспрессирующих рецептор к IL-4 – главному индуктору M2-поляризации, по сравнению со здоровыми лицами. Если в группе контроля CD163⁺ моноциты составляли 14,35% от всех моноцитов, то у больных злокачественным новообразованием данный показатель равнялся лишь 0,85% ($p = 0,0009$). CD124⁺ популяция моноцитов у больных PMЖ в 3,6 раза меньше, чем у здоровых лиц ($p = 0,005$). При этом экспрессия генов-маркеров M2 в моноцитах и уровень сывороточного IL-4 не имели различий в группах сравнения. Интересен тот факт, что количество CD124⁺ моноцитов ПК у больных PMЖ коррелировало с уровнем EpCAM⁺ циркулирующих опухолевых клеток ($r = 0,7$, $p < 0,05$).

Заключение. Моноциты ПК у больных PMЖ и у здоровых лиц имеют выраженные фенотипические, экспрессионные и функциональные отличия. Выявленные отличия связаны с системным воспалением и циркуляцией опухолевых клеток в кровотоке у больных PMЖ и могут оказаться критическими для осуществления направленного программирования свойств индуцируемых из моноцитов макрофагов у больных злокачественными новообразованиями, что следует учитывать при разработке иммунотерапевтических подходов.

ОЦЕНКА ПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ГЛИОБЛАСТОМАМИ ДО И ПОСЛЕ ОПЕРАТИВНОГО ВМЕШАТЕЛЬСТВА

Сухина И.А., Чемодакова К.А., Мартынов Б.В.,
Никитин В.Ю., Иванов А.М., Иванникова Л.П.

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Глиомы (нейроэпителиальные опухоли) составляют около 60% всех опухолей головного мозга. В настоящее время их лечение, в зависимости от степени злокачественности, может сочетать различные под-

ходы, такие как хирургическое вмешательство, лучевая терапия, химиотерапия. Эти методы, не смотря на достижения, остаются неудовлетворительными, особенно для глиобластом, что приводит к необходимости поиска новых вариантов лечения. Перспективным методом для борьбы с некоторыми опухолями стала иммунотерапия, но ее применение для лечения глиом имело ограниченный успех. Изучение иммунобиологии глиальных новообразований головного мозга поможет понять причины неудачи этого терапевтического метода и привести к более успешному лечению в будущем.

Цель и задачи. Целью данного исследования явилось выявление значимых иммунологических показателей у пациентов с глиомами, динамика их изменения после проведения хирургического лечения для подбора наиболее адекватной тактики терапии в дальнейшем. Для решения этой задачи у больных глиальными опухолями с различными гистологической структурой и степенью злокачественности были исследованы субпопуляции Т- и NK-лимфоцитов, основных участников противоопухолевого иммунитета.

Материалы и методы. Исследована периферическая кровь (ПК) 58 пациентов с глиальными опухолями головного мозга различной степени злокачественности. Взятие крови проводили в день выполнения оперативного вмешательства и на 7-е сутки после него. Иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови (ПК) осуществляли на проточном цитометре «Cytomics FC500» (фирма Beckman Coulter, США) с использованием комбинаций прямых моноклональных антител той же фирмы: CD45FITC/CD4PE/CD8ECD/CD3PC5/CD25PC7, CD45FITC/CD56PE/CD19ECD/CD3PC5.

Результаты. Пациенты были распределены по группам по степени злокачественности: группа grade II (диффузные глиомы) – 19 чел. (33%); группа grade III (анapластические глиомы) – 21 чел. (36%); группа grade IV (глиобластомы) – 18 чел. (31%). После первичного иммунофенотипического исследования больным было проведено хирургическое лечение: в группе с диффузными глиомами (grade II) преимущественно выполнялась стереотаксическая биопсия, в случаях с глиомами grade III-IV (high grade) – открытое вмешательство и криодеструкция опухоли в целевых точках. До хирургического лечения в ПК больных с глиомами низкой степени злокачественности (grade II) отмечалось более высокое ($p < 0,05$) абсолютное количество общих Т-лимфоцитов ($CD3^+$), Т-хелперов ($CD3^+CD4^+$) и NK-клеток ($CD3^-CD56^+$) по сравнению с пациентами с глиомами высокой степени злокачественности (high grade). В послеоперационном периоде в группе grade II было обнаружено выраженное ($p < 0,05$) снижение числа $CD3^+$ (до: $2,42 \pm 0,18$; после: $1,54 \pm 0,09$), $CD3^+CD4^+$ (до: $1,56 \pm 0,12$; после: $0,95 \pm 0,07$), $CD3^-CD56^+$ (до: $15,47 \pm 1,58$; после: $7,17 \pm 0,47$) и увеличение ($p < 0,05$) популяции $CD3^+CD8^+$ цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ) (до: $0,53 \pm 0,04$; после: $0,79 \pm 0,07$). Тогда как у больных с grade III,IV глиомами статистически значимых изменений данных показателей после операции не наблюдалось. В то же время в ПК больных с high grade глиомами и до, и после операции выявлено повышение ($p < 0,05$) абсолютного количества Т-киллеров ($CD3^+CD56^+$). Наряду с этим в группе grade IV на дооперационном этапе по сравнению с другими группами зафиксировано увеличение ($p < 0,05$) относительного количества Treg ($CD3^+CD4^+CD25^{bright}$), обладающих супрессорной функцией.

Заключение. На дооперационном уровне у пациентов с диффузными астроцитомами (grade II) (в отличие от больных с grade III, IV) наблюдалась активация Т-клеточного звена иммунитета и NK-клеток, препятствующая быстрому развитию опухоли, но при недостаточном эффективном цитотоксическом Т-клеточном ответе. После хирургического вмешательства пациенты группы grade II (в отличие от больных с grade III, IV) продемонстрировали усиление цитотоксического ответа. Уменьшение количества NK-клеток у пациентов с диффузными астроцитомами (grade II) и анапластическими глиомами (grade III) после хирургического лечения может быть связано с миграцией этих клеток в зону оперативного вмешательства. Повышенное количество Т-киллеров до и после хирургического вмешательства у больных с high grade глиомами возможно отражает компенсаторную реакцию иммунной системы на низкий ЦТЛ ответ. Увеличение Treg на дооперационном этапе свидетельствует о нарушении противоопухолевого иммунного ответа (возможно инициированного опухолью), что является причиной подавления цитотоксического Т-клеточного ответа у больных с high grade глиомами.

МЕХАНИЗМЫ ДЕФЕКТНОСТИ $TNF\alpha$ -ОПОСРЕДОВАННОЙ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК БОЛЬНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ГЛИОМАМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Тыринова Т.В.¹, Леплина О.Ю.¹, Мишинов С.В.², Долгова Е.В.⁴, Проскуракова А.С.⁴, Баторов Е.В.¹, Калиновский А.В.³, Чернов С.В.³, Ступак В.В.², Богачев С.С.⁴, Черных Е.Р.¹

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия

² ФГБУ «Научно-исследовательский институт Травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Министерства здравоохранения РФ, Новосибирск, Россия

³ ФГБУ «Федеральный центр нейрохирургии» Министерства здравоохранения РФ, Новосибирск, Россия

⁴ ФГНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

Введение. Дендритные клетки (ДК) играют ключевую роль в индукции противоопухолевого иммунного ответа и при этом обладают эффекторной функцией, заключающейся в способности лизировать опухолевые клетки. У больных злокачественными глиомами ДК характеризуются нарушением цитотоксической активности против $TNF\alpha$ -чувствительных опухолевых клеток, что связано с низким уровнем экспрессии мембранной формы $TNF\alpha$ ($mTNF\alpha$) на ДК. Одним из позитивных регуляторов цитотоксичности ДК и экспрессии $mTNF\alpha$ является экзогенная двуцепочечная ДНК человека ($dsDNA$).

Цель. Настоящее исследование направлено на изучение механизмов дефектности $mTNF\alpha$ -медируемой цитотоксической активности ДК больных злокачественными глиомами, а также роли $dsDNA$ в регуляции этих механизмов.

Материалы и методы. В исследование были включены 15 здоровых доноров и 13 больных с глиобластомой (Grade IV). ДК получали путем культивирования прилипающей фракции мононуклеарных клеток в присутствии GM-CSF и IFN α с последующим дозреванием в липополисахаридом (IFN-ДК). Уровень экспрессии мРНК TNF α в ДК определяли методом обратной транскрипции и RT-PCR и нормировали относительно содержания мРНК гена «домашнего хозяйства» RPLP0. Активность TNF α -конвертирующего фермента (TACE) в ДК оценивали спектрофлуориметрически.

Результаты. Экспрессия мРНК TNF α в IFN-ДК больных глиобластомой была снижена более чем в 2 раза по сравнению с IFN-ДК доноров (Ме $2^{-\Delta\Delta Ct} = 0,35$ vs 1; $p < 0,05$). Активность фермента TACE, осуществляющего шеддинг mTNF α с мембраны клеток, была выше более чем в 2 раза в IFN-ДК больных по сравнению с IFN-ДК доноров (Ме 680 RFU/ μ г белка vs 265 RFU/ μ г белка; $p = 0,08$). Добавление в культуры IFN-ДК больных глиобластомой dsDNA (5 мкг/мл) на этапе конечного созревания (совместно с ЛПС) увеличивало экспрессию мРНК TNF α в IFN-ДК больных глиомами (Ме $2^{-\Delta\Delta Ct} = 2,74$ vs 0,35; $p = 0,09$) и приводило к значимому снижению активности TACE по сравнению с интактными ЛПС-стимулированными ДК анализируемых пациентов (Ме 680 RFU/ μ г белка vs 443 RFU/ μ г белка; $p = 0,043$).

Заключение. Нарушенная регуляция экспрессии mTNF α в IFN-ДК у больных злокачественными глиомами обусловлена низким уровнем экспрессии мРНК TNF α и высокой активностью фермента TACE. При этом нарушенная регуляция экспрессии mTNF α может корректироваться с помощью dsDNA как на транскрипционном уровне, так и посттрансляционном уровне.

ВЗАИМОСВЯЗЬ ЦИТОКИНОВ С АЛЛОПРЕГНАНОЛОНОМ У ЖЕНЩИН С ПРЕДМЕНСТРУАЛЬНЫМ СИНДРОМОМ

Хайдарова Ф.А., Ходжаева Н.В.

Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр эндокринологии
Министерства здравоохранения РУз, Ташкент,
Узбекистан

Выявлено, что возникновение ПМС зависит от типа чувствительности организма к половым гормонам. Выявлена связь предменструального синдрома с аллопрегнанолоном — женским половым гормоном из группы гестагенов. В норме чувствительность к этому гормону у женщин является максимальной после менструации и минимальной перед ней, из-за чего ПМС, как правило, не возникает. Однако примерно 8% женщин, напротив, имеют повышенную чувствительность к аллопрегнанолону перед менструацией, что проявляется симптомами предменструального синдрома.

Целью исследования явилось изучение уровня провоспалительных цитокинов (TNF α и IL-6) и аллопрегнанолона у женщин с ПМС в зависимости от фазы менструального цикла. Обследовано 76 женщин репродуктивного возраста, обратившихся за медицинской помощью в консультативную поликлинику РСМНПЦ Эндокринологии МЗ РУз с жалобами на наличие соматических и/или психозмоциональных симптомов, возникающих перед менструацией. 20 практически здоровых женщин без жалоб на ПМС составили контрольную группу. Всем женщинам было проведено лабораторное обследование в сыворотке

крови, включающее изучение иммунологических (провоспалительные цитокины TNF α и IL-6) и гормональных (аллопрегнанолон) показателей на 5-6 и 20-21-й день менструального цикла, методом ИФА. Наиболее распространенными симптомами заболевания явились депрессия (92%), агрессивность (88%), нагрубание молочных желез (75%), изменение аппетита (72%), отечность (69%). Выраженность тревожных и депрессивных расстройств достоверно повышалась к 25-му дню менструального цикла.

Анализ результатов показал, что у женщин контрольной группы уровень TNF α в лютеиновую фазу в 1,8 раза выше ($40,1 \pm 2,3$ пкг/мл), чем в фолликулиновую ($21,8 \pm 1,84$ пкг/мл) ($P < 0,01$). Динамика уровня TNF α позволяет предполагать позитивную связь с уровнем всех женских половых гормонов, которые имеют сходные циклические колебания. Уровень IL-6 у женщин контрольной группы в фолликулиновую фазу составил в среднем $18,9 \pm 1,8$ пкг/мл, а в лютеиновой фазе этот показатель был в 1,68 раза выше, чем в фолликулиновую фазу и составил в среднем $31,7 \pm 1,9$ пкг/мл ($P < 0,05$). У женщин с ПМС в фолликулиновую фазу уровень TNF α достоверно выше относительно данных контрольной группы ($P < 0,01$). Однако, уровень IL-6 у женщин с предменструальным синдромом достоверно снизился в 1,3 раза относительно контрольных значений ($P < 0,05$). Необходимо отметить, что у женщин с ПМС наблюдаются изменения концентрации некоторых гормонов в лютеиновую фазу, в частности, аллопрегнанолона, который ингибирует синтез IL-6. В фолликулиновую фазу у женщин контрольной группы уровень аллопрегнанолона составил в среднем $3,54 \pm 0,25$ нг/мл, а в лютеиновую фазу — $2,92 \pm 0,14$ нг/мл, что достоверно ниже, чем в фолликулиновую фазу ($P < 0,05$).

Анализ результатов по изучению уровня аллопрегнанолона у женщин с ПМС показал, что в лютеиновой фазе концентрация его достоверно ниже ($1,29 \pm 0,05$ нг/мл), чем у женщин контрольной группы ($2,92 \pm 0,14$ нг/мл) ($P < 0,05$). Следовательно, низкий уровень аллопрегнанолона сопровождается низким уровнем IL-6 и повышенным уровнем TNF α ($P < 0,05$). Показано, что при ПМС происходит изменение синтеза некоторых гормонов, в частности прогестерона. В связи с этим, можно предположить, что предменструальный синдром развивается не только от дефицита прогестерона, но и от особенностей его метаболизма в ЦНС. При нормальном метаболизме прогестерон способен образовывать аллопрегнанолон, который стимулирует ГАМК-А рецепторы, а также повышает активность хлоридных ионных каналов нейронных мембран, обеспечивая седативный эффект. При нарушениях метаболизма прогестерона в ЦНС гормон образует прегнанолон, который является антагонистом А- и В-ГАМК рецепторов, наличие которых может объяснить клинические проявления ПМС. Сниженный уровень аллопрегнанолона вызывает депрессию, часто встречающуюся при предменструальном синдроме. Разнонаправленное содержание изученных провоспалительных цитокинов коррелирует со сниженным уровнем аллопрегнанолона, что свидетельствует о взаимосвязи иммунной и эндокринной систем, при которой изменение в одной системе оказывает влияние на изменение другой. Причем, что интересно, циклические изменения гормонов приводят к изменению функций иммунокомпетентных клеток не только на местном, но и на системном уровне, что проявляется изменением концентрации сывороточных цитокинов или интенсивности их продукции циркулирующими лимфоцитами.

ВЛИЯНИЕ АУТОПЛАЗМЫ НА ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ ЛИМФОЦИТОВ В ПРИСУТСТВИИ АУТОЛОГИЧНЫХ КЛЕТОК ОПУХОЛИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА

Храмова Т.В., Вараксин В.В., Батов С.В., Гулам М.Р., Кудашева Е.Л.

ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет»

БУЗ УР «Республиканский клинический онкологический диспансер им. С.Г. Примушко» Министерства здравоохранения УР, Ижевск, Россия

Введение. Известно, что важную роль в контроле опухолевого роста играет иммунная система. Однако механизм этого контроля остается не известен. Существующие сегодня факты позволяют предполагать, что аутореактивные лимфоциты и продуцируемые ими аутоантитела регулируют пролиферативную активность клеток и тканей организма в норме. В соответствии с теорией идиотипической сети Н. Эрне, все лимфоциты организма способны к специфическому взаимодействию между собой посредством комплементарного взаимодействия антигенраспознающих рецепторов друг друга. Такие взаимодействия называются идиотип-антиидиотипическими и лежат в основе формирования иммунной сети. Согласно гипотезе данного исследования, антиидиотипические антитела регулируют активность аутореактивных лимфоцитов, специфичных к тканевым антигенам. Нарушения в этой регуляции могут приводить к нарушению контроля над пролиферацией и патологическому разрастанию ткани.

Цель. Исследование влияния антиидиотипических антител на пролиферацию лимфоцитов в культуре в присутствии опухолевых клеток щитовидной железы.

Материалы и методы. Исследованы больные раком щитовидной железы с метастазами ($n = 7$) и больные раком щитовидной железы без метастазов ($n = 9$). Из плазмы крови больных, полученной перед операцией, выделяли лимфоциты на градиенте плотности фиколла-верографина. Из опухолевой ткани, полученной после тиреоидэктомии, выделяли клетки щитовидной железы ферментативным способом и обрабатывали митомицином С. Лимфоциты предварительно инкубировали с аутоплазмой, после чего отмывали от несвязавшихся факторов плазмы. Предварительные исследования показали специфический характер реакции лимфоцитов на обработку аутоплазмой, это служит основанием предполагать, что эффект аутоплазмы может быть обусловлен антиидиотипическими антителами. Оценивали интенсивность пролиферации лимфоцитов в культуре по потреблению глюкозы глюкозооксидазным методом после 5 дней инкубации с опухолевыми клетками щитовидной железы.

Результаты. Обнаружено, что в группе больных раком щитовидной железы с метастазами наблюдается высокая активность аутологичных лимфоцитов по отношению к раковым клеткам щитовидной железы, которая выражается в $3,1 \pm 1,8$ ммоль потребленной глюкозы. В группе больных раком щитовидной железы без метастазов этот показатель равен $1,3 \pm 0,9$ ммоль. Предварительная инкубация лимфоцитов с аутоплазмой с последующим отмыванием от несвязавшихся факторов плазмы позволяет оценивать влияние антиидиотипических антител на пролиферативную активность лимфоцитов, специфичных к тканевым антигенам щитовидной железы. При

раке щитовидной железы с метастазами наблюдается отсутствие эффекта после обработки аутоплазмой лимфоцитов, тогда как при раке щитовидной железы без метастазов обработка аутоплазмой оказывает ингибирующий эффект на пролиферацию лимфоцитов, вызванную клетками щитовидной железы.

Для сравнения, аналогичные исследования были проведены на здоровых крысах. Исследовали влияние обработки лимфоцитов аутоплазмой на пролиферативную активность лимфоцитов в присутствии аутологичных клеток щитовидной железы. Было обнаружено, что активность лимфоцитов по отношению к клеткам щитовидной железы у крыс варьирует в широком диапазоне (от 0 до 4,6 ммоль потребленной глюкозы), однако, эффект аутоплазмы зависит от текущей активности лимфоцитов. Так, при относительно низкой пролиферативной активности лимфоцитов обработка лимфоцитов аутоплазмой стимулирует их пролиферацию в присутствии клеток щитовидной железы, при относительно высокой – ингибирует, при средних значениях пролиферативной активности влияние аутоплазмы отсутствует.

Заключение. Таким образом, в норме обработка аутоплазмой оказывает нормализующий эффект на пролиферативную активность лимфоцитов. Это не противоречит гипотезе исследования о регуляторной роли антиидиотипических антител в регуляции аутореактивных лимфоцитов. Ингибирующий эффект аутоплазмы при раке щитовидной железы без метастазов и отсутствие эффекта при раке с метастазами свидетельствует об изменении в системе регуляции пролиферативной активности клеток. Различие в эффекте аутоплазмы между больными раком щитовидной железы без метастазов и больными раком с метастазами может использоваться для определения наличия метастазов и прогнозировании возможных рецидивов после тиреоидэктомии у больных раком щитовидной железы.

ИЗМЕНЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ПАЦИЕНТОВ С ОНКОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПОСЛЕ ОПЕРАЦИИ И ПОЛИХИМИОТЕРАПИИ

Шабашова Н.В., Никитин О.А., Вишниккина Е.Д., Филиппова Л.В.

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Злокачественные новообразования остаются серьезной медицинской и социальной проблемой. Использование традиционных методов лечения не исключает возможности метастазирования или повторного заболевания, поскольку клиническая эффективность этих методов не способна избавить пациента от дефектности защитных противораковых механизмов, которая лежит в основе развития раковых заболеваний.

Цель и задачи. Оценить состояние иммунной системы пациентов с разными вариантами рака после оперативного лечения и полихимиотерапии в периоде ремиссии при первом посещении иммунолога.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужили иммунограммы 36 пациентов с разными вариантами рака желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) – 1-я группа и 21 больная раком молочных желез – 2-я груп-

па, впервые обратившихся к иммунологу за 2009–2016 гг. Среди них 26 пациентов посещали иммунолога в течение года, 14 пациентов – более двух лет, 6 – более пяти лет с оценкой динамики клинического состояния и повторных анализов после лечения. Были оценены иммунограммы пациентов при первичном посещении. В качестве контрольных показателей использовали показатели иммунитета 19 условно здоровых лиц. Данные обрабатывались с помощью программной системы STATISTICA for Windows (версия 6.0).

Результаты. Установлено, что средние показатели содержания различных клеток в периферической крови достоверно не отличались от контроля. Анализ индивидуальных результатов показал тенденцию к лейкопении $Me = 4,6 \times 10^9/л$ ($p < 0,05$) и нейтропении $Me = 2,52 \times 10^9/л$ ($p < 0,05$) у больных раком ЖКТ и лимфопении $1,35 \times 10^9/л$ ($p = 0,0004$) после традиционных методов лечения рака молочных желез. При этом у больных 1-й группы выявлено достоверное снижение средних значений содержания клеток с рецепторами к IL-2 (CD25⁺) – $Me = 8,0\%$ ($p < 0,05$) и $Me = 0,15 \times 10^9/л$ ($p < 0,05$) и В-лимфоцитов (CD19⁺) – $Me = 0,20 \times 10^9/л$ ($p < 0,05$), тенденция к увеличению числа Т-цитотоксических лимфоцитов $Me = 29\%$ ($p > 0,05$) и снижению количества натуральных киллеров $Me = 0,20 \times 10^9/л$ ($p > 0,05$). Тенденция к увеличению CD8⁺-ЛФ при снижении числа НК сопровождалась достоверным дефицитом синтеза индуцированного IFN γ $Me = 458,0$ пг/мл ($p < 0,05$), который является основным цитокином этих клеток и регулятором противоопухолевой защиты, а также фагоцитарных функций. Возможно, этот дефект является одной из причин снижения киллерной активности нейтрофильных гранулоцитов, о чем свидетельствовал достоверно измененный коэффициент киллинга $Me = 16,0\%$ ($p < 0,05$). Изменения показателей у больных 2-й группы отличались от 1-й: абсолютная лимфопения сопровождалась снижением абсолютных значений большинства лимфоидных субпопуляций: CD4⁺ – $0,56 \times 10^9/л$ ($p = 0,001$); CD19⁺ – $0,20 \times 10^9/л$ ($p = 0,0185$); CD25⁺ – $0,13 \times 10^9/л$ ($p = 0,0001$); CD56⁺ – $0,14 \times 10^9/л$ ($p = 0,0013$) при нормальных относительных, кроме CD25⁺ (%) – $9,0\%$ ($p = 0,0001$). Как и в 1-й группе обнаружено значительное истощение способности к синтезу IFN γ – уровень цитокина при индукции ФГА – $377,5$ пг/мл ($p = 0,0001$). Это может быть свидетельством дефектов основных клеточных механизмов противоопухолевой защиты, регулятором которых, как и фагоцитарных функций, является IFN γ . Отличием от контрольных данных в обеих группах было увеличение метаболической активности нейтрофилов – НСТ активированный – $66,0\%$ ($p = 0,0165$) и снижение коэффициента киллинга – $16,0\%$ ($p = 0,0001$) – закономерные изменения после полихимиотерапии и свидетельство сохраняющегося воспалительного процесса.

Заключение. Отсутствие существенных отклонений средних величин большинства иммунологических показателей пациентов с опухолевыми заболеваниями свидетельствует о неадекватности состояния иммунной системы в данный период ремиссии. Это может быть обусловлено как самим патологическим процессом, причиной которого считается нарушение противоопухолевого иммунитета, так и последствием традиционных видов лечения, в частности, полихимиотерапии. Снижение IFN γ , по-видимому, является одним из основных показателей дефицита функций всех киллерных механизмов, учитывая важнейшую регуляторную роль этого цитокина в названных процессах противораковой защиты. Выявленные изменения актив-

ности лимфоидных клеток и фагоцитов свидетельствуют о необходимости иммунореабилитации для профилактики метастазирования, рецидивов, повторных эпизодов рака и хронических воспалительных заболеваний.

ИММУНОТЕРАПИЯ ВАКЦИНОЙ НА ОСНОВЕ КСЕНОГЕННЫХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК МЕЛАНОМЫ КОЖИ III СТАДИИ: БЕЗОПАСНОСТЬ, ИММУНОГЕННОСТЬ, ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Шишков А.А.¹, Селедцова Г.В.¹, Кащенко Э.А.¹, Гончаров А.Г.², Газанова Н.Д.², Селедцов В.И.²

¹ Институт фундаментальной и клинической иммунологии, Новосибирск, Россия

² Балтийский федеральный университет им. Иммануила Канта, Калининград, Россия

Введение. Современное состояние эпидемиологической картины и традиционно низкая клиническая эффективность традиционной терапии меланомы формирует определенный потенциал к дальнейшему поиску и развитию новых подходов к терапии данного заболевания. Многообещающие результаты демонстрирует развитие и применение препаратов Аргентиной терапии (препараты ингибирующие/блокирующие митоген активированный протеинкиназный путь – MAPK, антицитотоксический Т-лимфоцит ассоциированный рецептор – CTLA, рецептор программируемой клеточной гибели – PD-1 и его лиганд – PD-L1). Но данные препараты имеют определенные показания и демонстрируют ряд выраженных побочных эффектов, которые ограничивают их широкое применение. Кроме того, они не могут применяться с профилактической целью и не оказывают стимулирующего влияния на иммунную систему. Что в свою очередь, мотивирует научно-медицинское сообщество к разработке и изучению специфических иммуностимулирующих препаратов и методов терапии, включая и различные варианты противоопухолевых вакцин.

Цель. Изучение безопасности применения (определение наличия и степени выраженности нежелательных реакций или отсутствие таковых, а так же, влияние на общеклинические показатели крови) ксеногенной полиантигенной противоопухолевой вакцины в терапии меланомы кожи III стадии развития процесса. Определены характер и степени выраженности влияния терапии на пролиферативную активность мононуклеаров периферической крови пациентов на опухолевые антигены аллогенного происхождения (BRO – клеточная линия меланомы человека, лизат), на цитокиновый профиль сыворотки крови, на уровень субпопуляций лимфоцитов периферической крови, на общую 5-летнюю выживаемость пациентов.

Материалы и методы. Данное исследование проводилось в полном соответствии с протоколом клинического исследования утвержденным Научным советом и этическим комитетом «НИИФКИ» г. Новосибирска. Каждым пациентом дано письменное согласие на участие в данном исследовании. Пациенты с гистологически подтвержденной меланомой кожи III стадии заболевания без наличия в анамнезе аутоиммунного заболевания, не подвергавшиеся иммуносупрессорному лечению в течение, не менее, чем за 4 недели до начала исследования и соответствующим 80% и более по шкале Карновского состоянию здоровья. Вакцина (лиофилизированный криолизат клеточной линии В16 меланомы и LLC карциномы мыши в количестве 50×10^6 25×10^6 клеток на дозу соответственно). Курс состоял из 10 инъекций (подкожно в 2,0 мл на-

трия хлорида 0,9% 5 инъекций с интервалом 1 раз в 7 дней, далее 5 инъекций с интервалом 14 дней). В соответствии с рекомендациями Национального института рака (NCI) оценивались наличие и степень локальных и системных нежелательных реакций. Для определения показателей параметров общего, биохимического анализа крови, аутоиммунных антител, субпопуляций лимфоцитов и цитокинового профиля использовались анализаторы и соответствующие наборы реактивов к ним (Erma PCE-210, Erma Inc, Japan; Furuno CA-180, Furuno Electric Company, Japan; eBioscience, San Diego, CA; ChemWell® 2910, Awareness Technology, USA). Статистическая обработка материала производилась с помощью пакета Statistica 6.0.

Результаты. В ходе исследования выявлено относительное увеличение субпопуляции CD4⁺CD45RO⁺ Т-клеток (но не CD8⁺CD45RO Т-клеток) и достоверное увеличение пролиферативной активности мононуклеаров на аллогенный антиген BRO. Данные изменения ас-

социировались с повышением в сыворотке крови уровней IFN β , IL-8 и увеличением общей 5-летней выживаемости в группе исследования относительно группы сравнения (55% против 18%). В процессе иммунизации не было отмечено серьезных нежелательных реакций. У части пациентов наблюдались локальные реакции в месте инъекции в виде гиперемии до 2,0 см и подъем температуры тела на 1 градус в течение первых суток после введения. Симптомы самостоятельно регрессировали в течение 48 часов.

Вывод. Иммуноterapia ксеногенной полиантигенной клеточной вакциной показала свою безопасность и выраженную эффективность в случае применения в терапии пациентов с меланомой кожи III стадии. Учитывая высокую иммуногенность, данный метод терапии показан в первую очередь в качестве терапии профилактики рецидива заболевания и может быть использован в сочетании со стандартными методами терапии рака.