

**Материалы и методы**

В исследуемую группу входят мужчины старше 18 лет, с диагнозом недержание мочи легкой и средней степени тяжести, которым выполнялось трансуретральное введение аутологичной СВФ в зону наружного сфинктера мочевого пузыря. Выделение СВФ производилось неферментным методом при помощи тумесцентной липоаспирации. Полученный материал направлялся в лабораторию для исследования клеточного состава.

**Результаты**

Клиническая эффективность оценивается через 1, 3, 6 месяцев на основании опросников ICIQ-SF, QoL и Pad Test. Первая оценка, проведенная через 1 месяц, показала положительные клинические результаты в 50% случаев.

**Выводы**

В данной работе нами отмечено, что трансплантация СВФ из аутологичной жировой ткани представляется эффективным и безопасным методом лечения пациентов с недержанием мочи. Клиническое исследование будет продолжено для получения статистически значимой выборки.

*Фадеев Ф.А., Луговец Д.В.,  
Губаева О.В.*

**СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ  
КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ  
ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ  
ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК**

ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»,  
г. Екатеринбург

Дендритные клетки (ДК) являются основной популяцией антигенпрезентирующих клеток. Их функция заключается в поглощении, процессинге антигенов и презентации антигенных эпитопов Т-лимфоцитам в лимфоидных образованиях, что делает ДК ключевым звеном в развитии специфического иммунного ответа. В норме ДК находятся в незрелом и неактивном состоянии, их созревание инициируется контактом с PAMPs (молекулярные фрагменты, ассоциированные с патогенами), DAMPs (молекулярные фрагменты, ассоциированные с повреждениями / опасностью) [1] или с провоспалительными цитокинами [2] и сопровождается повышением уровня экспрессии клеткой антигенпрезентирующих и костимулирующих рецепторов, а также повышением ее миграционной активности. Зрелые ДК приобретают способность к активации Т-клеточного звена иммунной системы. Важной особенностью определенных субпопуляций ДК является способность к перекрестной презентации антигенов, т.е. к презентации эпитопов поглощенных антигенов на рецепторах MHC I для активации CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов.

Функциональная активность дендритных клеток позволяет рассматривать их в качестве инструмента для иммунотерапии с целью активации у пациента иммунного ответа, при этом, как правило, используют зрелые ДК аутогенного происхождения.

ДК для иммунотерапии могут быть выделены из периферической крови, однако в большинстве случаев их получают путем дифференцировки из моноцитов периферической крови или, значительно реже, из CD34<sup>+</sup> гемопоэтических стволовых клеток [3]. Также рассматривается вариант использования иммортализованных линий ДК-подобных клеток. В частности, клеточная линия MUTZ-3, полученная из миелоидных клеток больного лейкозом, имеет фенотипическое и функциональное сходство с дендритными клетками [4].

Чаще всего препараты на основе ДК применяют для терапии онкологических заболеваний. Опухоль создает собственную микросреду, позволяющую ей регулировать активность клеток иммунной системы и, в частности, влиять на функциональную активность дендритных клеток. Условия формируемой опухолью микросреды, а также продуцируемые опухолью и опухольеассоциированными клетками цитокины (TGFβ, ИЛ-10, VEGF и ряд других) препятствуют созреванию ДК. Контакт с незрелыми ДК приводит к анергии Т-клеток или к приобретению ими иммунорегуляторного фенотипа [5]. Введение пациенту культивированных ex vivo зрелых аутогенных дендритных клеток, способных презентировать опухольеассоциированные антигены наивным Т-лимфоцитам, позволяет активировать противоопухольевый иммунный ответ.

Препараты на основе ДК также применяются для лечения инфекционных заболеваний с хроническим течением: ВИЧ-инфекции [6] и гепатитов В и С [7]. Еще одним направлением дендритноклеточной терапии является использование толерогенных ДК, сенсibilизированных аутоантигеном, для лечения аутоиммунных заболеваний. Иммуносупрессивный эффект толерогенных ДК может быть связан со стимуляцией апоптоза эффекторных аутореактивных Т-клеток, перевода специфичных к аутоантигену наивных Т-лимфоцитов в состояние анергии или их дифференцировки в Treg [8].

Применение препаратов на основе ДК в настоящее время носит характер клинических испытаний. Нами был проведен статистический анализ клинических исследований с использова-

нием дендритноклеточных препаратов, зарегистрированных на сайте clinicaltrials.gov.

Запрос на сайте clinicaltrials.gov в форме “(dendritic AND cell AND vaccine) OR (dendritic AND cell AND therapy)” выдал 774 результата. Исключение из запроса исследований, имеющих статус “Not yet recruiting”, “Enrolling by invitation”, “Suspended”, “Withdrawn” и “Unknown status” сократило количество результатов до 615.

Распределение проводимых исследований по странам (после исключения из результатов поиска исследований, не связанных с ДК терапией) представлено на рис. 1.

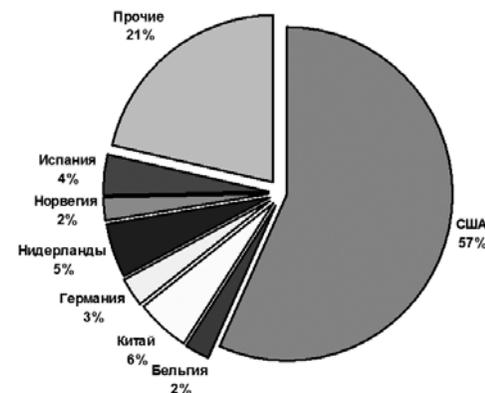


Рис. 1. Распределение проводимых исследований клинического применения ДК по странам.

Интернациональные исследования учитывались для каждой страны-участника отдельно. Абсолютным лидером по числу клинических исследований являются США, на их долю приходится более половины всех исследований в мире, за ними с большим отрывом идут Китай и Нидерланды.

Для разделения клинических исследований, связанных с лечением онкологических заболеваний и с терапией заболеваний иной этиологии, были добавлены дополнительные запросы “cancer” (472 результата) и “NOT cancer” (143 результата).

Начало первого клинического исследования по использованию ДК вакцин для лечения онкозаболеваний датировано 1996 г. При подсчете среднегодового количества вновь зарегистрированных исследований за 5-летние периоды, начиная с 1996 г., из результатов поиска были исключены исследования, не предполагавшие клиническое использование выделенных *ex vivo* ДК (около трети результатов поиска). Представленные на рис. 2 данные свидетельствуют о непрерывном росте количества клинических исследований с применением ДК терапии.

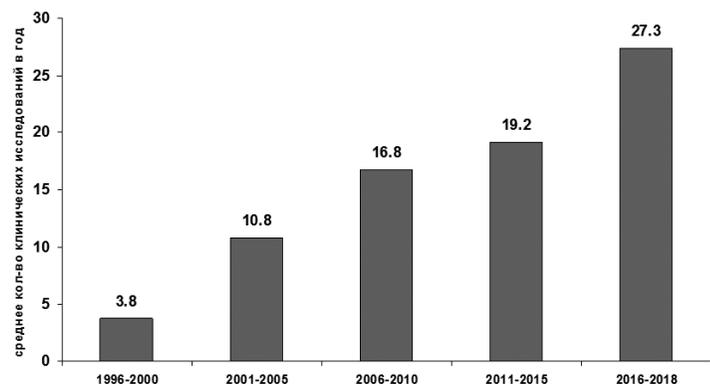


Рис. 2. Среднегодовое количество клинических исследований по лечению онкологических заболеваний с использованием препаратов на основе ДК.

Наиболее часто встречающиеся онкологические заболевания, для терапии которых применялись дендритные клетки, представлены в табл. 1 с указанием фазы исследований (исследования, не предполагавшие клиническое применение препаратов на основе дендритных клеток, были исключены из результатов запроса). Клинические испытания фазы IV при проведенных запросах не выявлены, что неудивительно, принимая во внимание, что испытания этой фазы могут проводиться лишь с препаратами, имеющими одобрение FDA, и, кроме того, требуют привлечения очень больших групп испытуемых. Для ряда исследований фаза не указывалась, что объясняет превышение общего количества исследований над суммарным количеством исследований по 3 фазам в некоторых строках. Исследования,

предполагавшие применение ДК терапии сразу для нескольких форм опухолей, подсчитывали для каждой формы отдельно.

Табл. 1. Количество клинических исследований с использованием ДК вакцин для терапии различных форм опухолевых заболеваний

Формы опухолей	Количество исследований			
	Общее	Фаза I	Фаза II	Фаза III
Меланома	71	24	44	3
Глиома / глиобластома	40	21	17	1
Рак предстательной железы	37	5	27	5
Рак молочной железы	33	14	16	0
Лейкоз/лимфома	24	7	15	1
Рак почки	23	4	17	1
Рак легкого	23	9	14	0
Колоректальный рак	20	8	12	0
Рак яичника	17	5	10	0

Большая часть исследований находится в фазе II, т.е. на этапе оценки клинической эффективности терапии. Исследования в фазе III (сравнительная рандомизированная оценка эффективности и безопасности по сравнению с иными способами лечения) очень немногочисленны, половина из них приходится на терапию рака предстательной железы. При этом 4 из 5 исследований ДК терапии данной формы рака имеют статус “Completed” (среди прочих исследований фазы III такой статус имеет лишь одно, посвященное лимфомам). Однако необходимо отметить, что все исследования терапии рака предстательной железы фазы III, имевшие статус “Completed”, выполнялись с использованием “Sipuleucel-T”, который является единственным препаратом на основе дендритных клеток, имеющим одобрение FDA. Данный препарат предназначен для лечения метастатического рака предстательной железы и представляет собой аутогенные дендритные клетки, сенсibilизированные кислотой

фосфатазой предстательной железы (PAP). При его получении фракцию мононуклеарных клеток периферической крови пациента подвергают воздействию рекомбинантного белка, включающего в себя PAP и GM-CSF [9].

Из 143 результатов запроса “(dendritic AND cell AND vaccine) OR (dendritic AND cell AND therapy)” и “NOT cancer” непосредственно применение ДК вакцин для лечения заболеваний не онкологической этиологии упомянуто лишь в 26 исследованиях. Из них первые два исследования были начаты в 2000 и 2003 году, соответственно. В 2006-2010 гг. были начаты 8 исследований, в 2011-2015 гг. — 10 и в 2016-2018 гг. — 4 (информация по времени начала двух оставшихся исследований отсутствует). Все эти исследования в настоящее время находятся в фазах I или II.

Большая часть этих исследований касалась применения ДК вакцин для терапии ВИЧ-инфекции, также есть исследования терапии хронических форм гепатитов В и С (табл. 2). В некоторых исследованиях дендритные клетки использовались не для стимуляции иммунного ответа, а в качестве средства иммунорегуляции. Толерогенные ДК применяли для терапии аутоиммунных и аллергических заболеваний (рассеянный склероз, диабет I типа, болезнь Крона, ревматоидный артрит, астма), а также для снижения интенсивности реакции отторжения трансплантата. Необходимо отметить, что в данной группе исследований распределение по странам отличалось от общего распределения: на США приходится менее половины (11 из 26 исследований), на втором месте находится Испания (5 исследований).

Поиск исследований по терапевтическому применению ДК, выполняемых в России, выдал 4 результата. Одно из исследований, посвященное оценке эффективности ДК вакцин при лечении пациентов с саркомой мягких тканей, выполняет Институт онкологии им. Н.Н. Петрова (Санкт-Петербург). Три других исследования, связанных с применением сенсibilизированных антигенами ДК для лечения колоректального рака и хронического гепатита С, а также с применением толерогенных ДК для

лечения ревматоидного артрита, проводятся в НИИ фундаментальной и клинической иммунологии (Новосибирск).

Табл. 2. Количество клинических исследований с использованием ДК вакцин для терапии заболеваний не опухолевой этиологии

Формы заболеваний	Количество исследований		
	Общее	Фаза I	Фаза II
ВИЧ-инфекция	14 (по фазе 2-х исследований нет информации)	5	7
Гепатит С	2	-	2
Гепатит В	1	-	1
Рассеянный склероз	3	3	-
Диабет I типа	1	1	-
Болезнь Крона	1	1	-
Ревматоидный артрит	2	2	-
Астма	1	1	-
Посттрансплантационная почечная недостаточность	1	-	1

На сайте [clinicaltrials.gov](http://clinicaltrials.gov) зарегистрированы еще 3 исследования по клиническому применению ДК, имевшие статус “Enrolling by invitation”, и в связи с этим попавшие в категорию исключения из первоначального запроса. Эти исследования включают применение ДК для иммунотерапии метастазов в головной мозг при раке молочной железы и легких, а также глиобластомы, и должны выполняться клиникой «НейроВита» (Москва) совместно с рядом учреждений, в т.ч. НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина (Москва).

На сайте также зарегистрировано выполняемое в Белоруссии клиническое исследование применения ДК для лечения аденокарциномы поджелудочной железы совместно Республиканским научно-практическим центром эпидемиологии и микро-

биологии и Белорусским государственным медицинским университетом (Минск).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Gallo PM., Gallucci S. The dendritic cell response to classic, emerging, and homeostatic danger signals. Implications for autoimmunity // *Front Immunol.* 2013. V.4. P.138.
2. Blanco P., Palucka A.K., Pascual V., Banchereau J. Dendritic cells and cytokines in human inflammatory and autoimmune diseases // *Cytokine Growth Factor Rev.* 2008. V.19(1). P.41-52.
3. Elster J., Krishnadas D., Lucas K. Dendritic cell vaccines: A review of recent developments and their potential pediatric application // *Hum Vaccin Immunother.* 2016. V.12(9). P.2232-9.
4. Masterson A., Sombroek C., De Gruijl T. et al. MUTZ-3, a human cell line model for the cytokine-induced differentiation of dendritic cells from CD34+ precursors // *Blood.* 2002. V.100(2). P.701-3.
5. Ghiringhelli F., Puig P., Roux S. et al. Tumor cells convert immature myeloid dendritic cells into TGF-beta-secreting cells inducing CD4+CD25+ regulatory T cell proliferation // *J Exp Med.* 2005. V.202(7). P.919-29.
6. Lu W., Arraes L., Ferreira W. Andrieu J. Therapeutic dendritic-cell vaccine for chronic HIV-1 infection // *Nat Med.* 2004. V.10(12). P.1359-65.
7. Zabaleta A., D'Avola D., Echeverria I. et al. Clinical testing of a dendritic cell targeted therapeutic vaccine in patients with chronic hepatitis C virus infection // *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2015. V.2:15006.
8. Van Brussel I., Lee W., Rombouts M. et al. Tolerogenic dendritic cell vaccines to treat autoimmune diseases: can the unattainable dream turn into reality? // *Autoimmun Rev.* 2014. V.13(2). P.138-50.
9. Hammerstrom A., Cauley D., Atkinson B., Sharma P. et al. Cancer immunotherapy: sipuleucel-T and beyond // *Pharmacotherapy.* 2011. V. 31(8). P.813-28.

Коньшев К.В., Сазонов С.В.

## РЕЦЕПТОРНЫЙ СТАТУС КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ИЗМЕНЯЕТСЯ ПРИ РЕГИОНАРНОМ МЕТАСТАЗИРОВАНИИ

ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»,  
ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет МЗ»,  
г. Екатеринбург

#### Введение

Исчерпывающая фенотипическая и генотипическая характеристика опухолевой ткани в настоящее время является невозможной вследствие присущей опухолям гетерогенности. В настоящее время вопросы гетерогенности опухолей активно исследуются как для понимания ее биологических механизмов, так и для поиска учитывающих ее терапевтических подходов [1].

Вопросы различий экспрессии рецепторов к эстрогену (РЭ), рецепторов к прогестерону (РП), онкобелка Her2/neu и маркера пролиферации Ki67 между клетками первичной и метастатической опухоли при раке молочной железы привлекают внимание исследователей, поскольку учет этого варианта опухолевой гетерогенности является возможным путем повышения эффективности терапии и оценки прогноза заболевания [2]. До настоящего времени не существует единого мнения о природе и значении для клиники таких различий. Некоторые авторы отрицают биологическое происхождение гетерогенности экспрессии белков, выявляемых иммуногистохимическим методом, сводя их к артефактам [3]. Однако в большинстве работ, опубликованных в последние годы, существование биологически обуслов-