

УДК 618.19-006.6:615.277.3 + 615.37:612,017.1

**ОПЫТ ПЕРИТУМОРАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО
ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ – ТИМОЗИНА-А1
ПРИ МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННОМ РАКЕ
МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ IIВ-IIIВ СТАДИИ**

**Владимирова Л.Ю., Подзорова Н.А., Златник Е.Ю.,
Закора Г.И., Бахтин А.В., Мягкова В.С.**

*ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России,
Ростов-на-Дону, e-mail: rnioi@list.ru*

В статье освещены результаты опыта клинического применения нового отечественного препарата на основе рекомбинантного фактора некроза опухоли – тимозина-α1 Рефнота в комбинации с различными режимами полихимиотерапии на неoadъювантном этапе лечения больных местно-распространенным раком молочной железы. В отличие от стандартного подкожного метода введения авторами было предложено применять Рефнот перитуморально с целью максимального воздействия препарата непосредственно на зону опухоли, перитуморальную ткань, местный иммунитет. При перитуморальном введении Рефнота по 200000 МЕ в 1–5 дни каждого курса лечения выявлено достоверное увеличение частоты объективных эффектов, в том числе за счет увеличения частоты полных регрессий, а также снижение частоты и выраженности осложненной полихимиотерапии. Исследование иммунного статуса больных в динамике демонстрирует, что предложенный метод перитуморального применения рекомбинантного фактора некроза опухоли – тимозина-α1 оказывает иммунокорректирующее действие, преимущественно за счет иммуностимулирующего влияния на В-клеточное звено иммунной системы.

Ключевые слова: рак молочной железы, рекомбинантный фактор некроза опухоли – тимозин-α1, Рефнот, цитокины, полихимиотерапия, перитуморальное введение

**EXPERIENCE OF PERITUMORAL APPLICATION OF RECOMBINANT HYBRID
PROTEIN OF TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA-THYMOSIN-ALPHA1
IN STAGE IIВ-IIIВ LOCALLY ADVANCED BREAST CANCER**

**Vladimirova L.Y., Podzorova N.A., Zlatnik E.Y., Zakora G.I.,
Bakhtin A.V., Myagkova V.S.**

Rostov Scientific Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, e-mail: rnioi@list.ru

The article highlights the results of experience of clinical application of a new domestic medication based on recombinant hybrid protein of tumor necrosis factor-alpha-thymosin-alpha1 Refnot in combination with various polychemotherapy regimens during neoadjuvant treatment of patients with locally advanced breast cancer. Significant increase in objective response rate, including increase in frequency of complete regressions, and decrease in frequency and severity of complications of polychemotherapy were detected during peritumoral application of Refnot. Study of immune status of patients in dynamics shows that the proposed method of peritumoral application of recombinant hybrid protein of tumor necrosis factor-alpha-thymosin-alpha1 has an immunocorrective effect, mainly because of its immunostimulant effect on B-cell component of the immune system.

Keywords: breast cancer, recombinant hybrid protein of tumor necrosis factor-alpha-thymosin-alpha1, Refnot, cytokines, polychemotherapy, peritumoral application

Рак молочной железы (РМЖ) занимает первое место в структуре заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований у женщин во всём мире. В России отмечается неуклонный прирост заболеваемости. За последние 10 лет он составил около 27%. В структуре смертности женщин от злокачественных новообразований в России в 2011 году РМЖ занимал лидирующее место (17,3%) [9]. В связи с этим не теряет своей актуальности поиск новых методов лечения данной онкологической патологии. Обязательным компонентом комплексного лечения местно-распространенного РМЖ, органосохраняющего лечения, является предоперационная системная полихимиотерапия (ПХТ) [8]. Наиболее эффективными остаются антрациклин-содер-

жащие режимы, преимущественно режим FАС (5-фторурацил + доксорубин + циклофосфамид), и режим РА (паклитаксел + доксорубин) [7]. Но достижение максимального противоопухолевого эффекта ограничено дозолимитирующей системной токсичностью цитостатиков. Для повышения эффективности химиотерапии больных РМЖ использовались методы введения химиопрепаратов на естественных средах организма (крови, лимфе, костном мозге) [1, 2]. В настоящее время достигнуты успехи в исследовании иммунопатологии и иммунотерапии онкологических заболеваний, в том числе РМЖ. Получены данные о том, что опухоли молочной железы развиваются на основе выраженных нарушений иммунной системы, возникающих уже при

предопухолевых заболеваниях, определяются распространенностью опухолевого процесса и усугубляются применяемым лечебным воздействием (операцией, облучением, химиотерапией, гормонотерапией). Эти данные и сведения о более благоприятном течении заболевания при сохраненном иммунитете побуждают многих исследователей к дальнейшему изучению состояния иммунной системы и разработке на этой основе более эффективных схем лечения больных РМЖ с включением иммунотерапии. Распространению и внедрению методов иммунотерапии способствует их физиологичность. Если в основу химиотерапии изначально заложено токсическое воздействие на здоровые и больные клетки, то при иммунотерапии эффект осуществляется посредством активации собственных механизмов защиты организма [3]. Сочетание химиотерапии с иммуноотропными веществами может значительно снижать токсический и иммуносупрессивный эффект противоопухолевых препаратов [11]. К настоящему времени накоплен достаточно большой опыт

клинического применения таких классических иммунокорректирующих лекарств, как полиоксидоний, имунофан, а также цитокиновых препаратов, среди которых альфа-2-интерферон [6]. Значительно менее известен клиницистам новый отечественный препарат Рефнот, который представляет собой уникальное соединение – гибридную молекулу двух биологически активных агентов – цитокина фактора некроза опухолей (ФНО) и гормона тимозина. Препарат обладает прямым противоопухолевым действием *in vitro* на различных линиях опухолевых клеток и *in vivo*. По спектру цитотоксического и цитостатического действия на опухолевые клетки препарат соответствует ФНО человека, однако Рефнот имеет в 100 раз меньшую общую токсичность, чем ФНО, обладает способностью угнетать ангиогенез в противоположность ФНО, сохраняя при этом способность повышать проницаемость эндотелия сосудов, запускать процесс апоптоза опухолевых клеток, активировать каскад химических реакций коагуляционной системы крови (рис. 1) [10, 5].



Рис. 1. Схема биологических эффектов ФНО-α на различные клетки [5]

Благодаря входящему в состав ФНО-Т тимозину-α1 Рефнот способен оказывать воздействие на Т-клеточное звено иммунной системы, которое играет ключевую роль в противоопухолевом иммунитете, а также участвует в реакциях гуморального иммунитета, т.к. для продукции антител

к большинству антигенов В-клеткам необходимо взаимодействие с Т-клетками-хелперами (CD4⁺) [4].

В отличие от стандартного подкожного метода введения Рефнота нами было предложено вводить рекомбинантный ФНО-Т перитуморально, в связи с тем что, проана-

лизировав механизмы действия препарата, мы предполагали получить более выраженный эффект, максимально воздействуя непосредственно на зону опухоли и перитуморальной ткани, местный иммунитет. По данным литературы [10] после инъекции Рефнота в течение суток вокруг опухоли развивается местная воспалительная реакция, которая внешне проявляется в виде очага гиперемии, слегка болезненного, без инфильтрации в месте введения препарата, благодаря чему непосредственно рядом с опухолью увеличивается интенсивность кровотока и облегчается доставка вводимых системно химиопрепаратов к опухолевому очагу. Помимо этого, под воздействием рекомбинантного ФНО-Т происходит активация как общего, так и местного иммунитета (прежде всего активируются макрофаги, цитотоксичность которых тесно связана с наличием молекул ФНО на их поверхности, а процесс созревания/активации этих клеток связан с ответом на Рефнот). Доказано также непосредственное воздействие рекомбинантного ФНО-Т на опухолевую клетку-мишень через соответствующие рецепторы на её поверхности со всеми процессами, запускаемыми внутри клетки, конечным результатом которых является апоптоз клетки (цитотоксическое действие) или арест клеточного цикла (цитостатическое действие). Кроме того, инициируется каскад химических реакций, включающий активацию коагуляционной системы крови и местных воспалительных реакций, обусловленных ФНО-Т-активированными клетками эндотелия и лимфоцитами, и ведущий к так называемому «геморрагическому» некрозу опухоли [10].

Целью настоящего исследования являлось изучение влияния Рефнота на эф-

фективность химиотерапии у больных местно-распространенным РМЖ, частоту и выраженность побочных явлений, а также оценка динамики некоторых показателей иммунного статуса.

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось на базе отделения химиотерапии № 1 ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ. Основными критериями включения больных РМЖ ПВ-ПШВ стадии были: ECOG ≤ 1, нормальные показатели общеклинических исследований, отсутствие отдаленных метастазов. За период с апреля 2012 года по октябрь 2013 года в исследование было включено 56 больных местно-распространенным РМЖ ПВ-ПШВ стадии, в возрасте от 29 до 70 лет; средний возраст 53,3 ± 1,1 лет. В основную группу вошли 25 пациенток, которым проводилась системная неoadъювантная ПХТ в режиме FАC (5-фторурацил 500 мг/м² + доксорубин 50 мг/м² + циклофосфан 500 мг/м²; интервал между курсами 21 день) или в режиме РА (паклитаксел 175 мг/м² + доксорубин 50 мг/м²; интервал между курсами 21 день) в комбинации с перитуморальным введением рекомбинантного ФНО-Т по 200000 МЕ в 1-е сутки (за 30 минут до введения цитостатиков) и далее 1 раз в день во 2–5-е сутки каждого курса ПХТ. В контрольной группе наблюдалась 31 пациентка, которым проводилась стандартная неoadъювантная ПХТ в тех же режимах, но без Рефнота. Перед началом лечения и после его завершения пациенткам выполнялся комплекс обследований, включающий: объективный осмотр, клинические анализы крови и мочи, маммографию молочных желез, компьютерную томографию органов грудной клетки и брюшной полости, трепан-биопсию опухоли с последующим морфологическим и иммуногистохимическим исследованием биоптата, оценку некоторых показателей иммунного статуса. Распределение больных основной и контрольной групп по стадиям РМЖ и менструальной функции представлено в табл. 1. Основная и контрольная группы больных по стадиям заболевания и по характеристикам менструальной функции были сопоставимы.

Таблица 1

Клиническая характеристика больных основной и контрольной групп

Группы больных	Стадия				Менструальная функция			
	ПВ	ША	ПШВ	ПШС	Сохранена	Менопауза (годы)		
						1–5	5–10	> 10
Основная (кол-во, %)	4 16%	9 36%	7 28%	5 20%	11 44%	6 24%	4 16%	4 16%
Контрольная (кол-во, %)	6 19,3%	9 29,0%	10 32,2%	6 19,3%	12 38,7%	4 12,9%	11 35%	4 16,9%

Иммуногистохимические особенности РМЖ больных основной и контрольной групп свидетельствуют о незначительном превалировании менее благоприятных форм среди больных основной группы (табл. 2).

В основной группе 17 пациенткам было проведено 49 курсов ПХТ по схеме РА, 8 больным – 14 курсов по схеме FАC, от 2 до 4 курсов ПХТ каждой пациентке. В группе контроля 21 больной было проведено

72 курса неoadъювантной ПХТ по РА схеме, а 10 пациенткам – 42 курса по FАC схеме, от 2 до 6 курсов каждой больной.

Результаты исследования и их обсуждение

В основной группе объективный эффект наблюдался чаще, чем в контрольной

группе (80% (20 больных) и 70,9% (21 больная) соответственно; $p = 0,06$), в том числе и за счет увеличения частоты полных регрессов: 20% (5 больных) против 6,4% (2 больных) (рис. 2). Стабилизация была отмечена у 20% (5 больных) в группе с применением Рефнота и у 22,6% (7 больных) в группе с ис-

пользованием стандартной ПХТ без Рефнота. Прогрессирование заболевания на этапе неoadьювантной терапии было выявлено у 9,7% (3) больных группы контроля, двум из них в связи с этим хирургический этап лечения выполнить не удалось; в основной группе случаев прогрессирования не наблюдалось.

Таблица 2

Иммуногистохимическая характеристика опухолей больных основной и контрольной групп

Группы больных	Люминальный А	Люминальный В (HER-2-)	Люминальный В (HER-2+)	Erb-B2-сверхэкспрессирующий	Базально-подобный
Основная (кол-во, %)	2 8%	10 40%	3 12%	6 24%	2 8%
Контрольная (кол-во, %)	5 16,1%	14 45,2%	3 9,7%	6 19,3%	2 6,4%



Рис. 2. Характеристика клинического эффекта неoadьювантного лечения у больных основной и контрольной групп

В основной группе больных наблюдались побочные эффекты низкой и средней степени выраженности (рис. 3): 15,9% (10) курсов сопровождались нейтропенией 1–2 степени, фебрильных нейтропений не было; 10% (6) – анемий 1–2 степени; 27,2% (17) курсов ($p = 0,08$) – тошнотой и рвотой 1–2 степени; 9,5% (6) курсов ($p = 0,07$) – полинейропатией 1–2 степени. Выявлены специфические для Рефнота побочные явления: у всех больных основной группы отмечалась реакция на его введение в виде очага гиперемии 0–1 степени, слегка болезненного, без инфильтрации в месте введения препарата; а также у 4 (16%) пациенток отмечалось повышение температуры тела от 37,2 до 37,8°C через 6–12 часов после введения Рефнота со снижением до

нормальной температуры в течение 24 часов без применения жаропонижающих средств. Местная реакция возникала, как правило, через 6–12 часов после введения препарата, а продолжительность ее варьировала от 24 часов (на 1–2 курсе ПХТ) до 48 часов (при последующих курсах ПХТ). По интенсивности данные нежелательные явления расценивались как слабые, т.е. не нарушали повседневной активности больных, легко переносились. В группе контроля нейтропения 1–2 степени отмечалась в 21% (24) курсов, анемия 1–2 степени – в 12,3% (14) курсов; тошнота и рвота 1–2 степени – 32,4% (37), полинейропатия 1–2 степени – 11,4% (13), диарея 1 степени – 4,4% (5), стоматит 1–2 степени – 1,8% (2).



Рис. 3. Характеристика побочных реакций неoadъювантного лечения у больных основной и контрольной групп

Все пациентки основной группы были прооперированы, никаких послеоперационных осложнений, связанных с использованием Рефнота, не наблюдалось. В настоящее время выживаемость больных в основной группе составила 100%, в группе контроля – 93,5%; выживаемость без прогрессирования в группе с применением Рефнота – 80%, в группе сравнения – 74,2%.

Результаты оценки иммунного статуса продемонстрировали, что при проведении неoadъювантных курсов лечения уровни Т-лимфоцитов и CD3⁺CD4⁺ клеток не имеют статистически значимых различий ни при сравнении основной и контрольной групп, ни в динамике лечения. Обнаружены некоторые различия в зависимости от использования Рефнота с различными схемами ПХТ. Так, количество CD3⁺CD8⁺ клеток после применения лечения по схеме РА + Рефнот оказалось статистически значимо выше, чем в контрольной группе, получавшей только РА без Рефнота (31,5 ± 2,8 и 21,7 ± 2,25% соответственно, p < 0,05); при применении в лечении ФАС + Рефнот подобных различий не выявлено. Содержание В-клеток с маркером CD20⁺ при использовании обеих схем ПХТ снижалось в динамике лечения у больных контрольной группы при использовании схемы ФАС (с 15,5 ± 0,53 до 13,7 ± 0,55% и при использовании РА с 16,7 ± 0,97 до 12,7 ± 1,0% (p < 0,05). Применение Рефнота в комплексе с обоими вариантами ПХТ защитило от этого отрицательного действия В-клеточное звено иммунной системы больных. Так, у больных основной группы, получавших

РА + Рефнот, уровень В-лимфоцитов после лечения составил 15,0 ± 1,0%, а у получавших ФАС + Рефнот 15,4 ± 1,4%; в обоих случаях отличия от показателей больных контрольной группы статистически достоверны (p < 0,05).

Выводы

Перитуморальное применение рекомбинантного ФНО-Т (Рефнота) обладает хорошей переносимостью, позволяет увеличить эффективность терапии больных местно-распространенным РМЖ, снизить частоту и степень выраженности системных побочных реакций, сократить сроки предоперационной терапии, а также демонстрирует иммунокорректирующее действие. Представляется целесообразным его применение в качестве терапии сопровождения при проведении неoadъювантной ПХТ у таких больных.

Список литературы

1. Владимирова Л.Ю. Неoadъювантная химиотерапия на естественных средах организма с применением пептида эпифиза эпиталамина в комплексном лечении местно-распространенного рака молочной железы: дис. ... канд. мед. наук. – Ростов н/Д., 2000. – 270 с.
2. Владимирова Л.Ю., Светицкая Я.В. Клинический опыт применения белкового концентрата аутоплазмы для неoadъювантной химиотерапии рака молочной железы // Прогнозирование вероятности развития рецидива рака: Сборник научных трудов / под редакцией акад. РАН и РАМН Ю.С. Сидоренко. – М., 2009. – С. 188–191.
3. Иммунодиагностика и иммунокоррекция в клинической практике / под ред. И.Д. Столярова. – СПб., 1999. – С. 176.
4. Личиницер М.Р. и др. Отчет РАМН Российского Онкологического Научного Центра им. Н.Н. Блохина «Вли-

яние Рефнота на иммунитет у онкологических больных». 2011. URL: <http://oncology-xxi.ru/report> (дата обращения: 07.06.2014 г).

5. Насонов Е.Л. Фактор некроза опухоли- α –новая мишень для противовоспалительной терапии ревматоидного артрита // Клиническая фарм-я и терапия. – 2001. – № 1. – С. 64–70

6. Пинегин Б.В., Некрасов А.В., Хайтов Р.М. Иммуномодулятор полиоксидоний: механизмы действия и аспекты клинического применения // Цитокины и воспаление. – 2004. – № 3(3). – С. 41–47

7. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний / под ред. Н.И. Переводчиковой. – 3-е изд., доп. и пер. – М.: Практическая медицина, 2011. – 512 с.

8. Семиглазов В.Ф. Рак молочной железы. Химиотерапия и таргетная терапия / В.Ф. Семиглазов, В.В. Семиглазов, А.Г. Манихас. – М.: МЕДпресс-информ, 2012. – 360 с.

9. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России. – М., 2012. – 138 с.

10. Шмельёв В. А. РЕФНОТ. Рекombинантный Фактор Некроза Опухолей-Тимозин- α 1, препарат с низкой системной токсичностью для лечения онкологических заболеваний. – М.: Рефнот-Фарм, 2010. – 92 с.

11. Rosenberg S.A. Principles and applications of biologic therapy in Cancer: principle and practice of Oncology / edit. V.T. DeVita et al., 1993, Ch. 17, P. 293–324.

References

1. Vladimirova L.Yu. Neoadyuvantnaya khimioterapiya na estestvennykh sredakh organizma s primeneniem peptida epifiza epitalamina v kompleksnom lechenii mestno-rasprostranennogo raka molochnoy zhelezy: Dis. kand. med. nauk. Rostov n/D, 2000. pp. 270.

2. Vladimirova L.Yu., Svetizkaya Ya.V. Klinicheskiy opyt primeneniya belkovogo kontsentrata autoplazmy dlya neoadyuvantnoy khimioterapii raka molochnoy zhelezy. Prognozirovanie veroyatnosti razvitiya retsidiva raka: Sbornik nauchnykh trudov. Pod red. akad. RAN i RAMN Yu.S. Sidorenko. M, 2009. pp. 188–191.

3. Immunodiagnostika i immunokorreksiya v klinicheskoy praktike. Pod red. I.D. Stolyarova, SPb., 1999. pp. 176

4. Lichinitser M.R. i dr. Otchet RAMN Rossiyskogo Onkologicheskogo Nauchnogo Tsentra im. N.N. Blokhina «Vliyanie Refnота na иммунитет u onkologicheskikh bolnykh». 2011. URL: <http://oncology-xxi.ru/report> (data obrascheniya: 07.06.2014).

5. Nasonov E.L. Faktor nekroza opukholi- α – novaya mishaen dlya protivovospalitelnoy terapii revmatoidnogo artrita. Klinicheskaya farmakologiya i terapiya. 2001; no. 1. pp. 64–70

6. Pinegin B.V., Nekrasov A.V., Khaitov R.M. Immunomodulyator polioksidoniy: mekhanizmy deystviya i aspekty klinicheskogo primeniya. Tsitokiny i vospalenie. 2004. no. 3(3). pp. 41–47

7. Rukovodstvo po khimioterapii opukholevykh zabolovaniy. Pod red. N.I. Perevodchikovoy. 3-e izd., dop. i per. M.: Prakticheskaya meditsina, 2011. pp. 512.

8. Semiglazov V.F. Rak molochnoy zhelezy. Khimioterapiya i targetnaya terapiya. V.F. Semiglazov, V.V. Semiglazov, A.G. Manikhas. M.: MEDpress-inform, 2012. pp. 360.

9. Chissov V.I., Starinskiy V.V., Petrova G.V. Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii. Moskva. 2012, pp. 138.

10. Shmelev V. A. REFNOT. Rekombinantnyy Faktor Nekroza Opukholey-Timozin- α 1, preparat s nizkoy sistemnoy toksichnostyu dlya lecheniya onkologicheskikh zabolovaniy. Moskva, Refnot-Farm, 2010, pp. 92.

11. Rosenberg S.A. Principles and applications of biologic therapy in Cancer: principle and practice of Oncology. edit. V.T. DeVita et al., 1993, Ch. 17, pp. 293–324.

Рецензенты:

Шихлярова А.И., д.б.н., профессор, главный научный сотрудник Южного научного центра РАН, г. Ростов-на-Дону;

Вашенко Л.Н., д.м.н., профессор, заведующая отделением опухолей мягких тканей, костей и молочной железы, ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ, г. Ростов-на-Дону.

Работа поступила в редакцию 29.07.2014.