

МЕДИЦИНА



целевые проекты



Вероника Скворцова:
ПОДВОДЯ ИТОГИ 2017 ГОДА
стр. 8



Павел Джувалыков:
НЕВЫПОЛНИМЫХ ЗАДАЧ
НЕ БЫВАЕТ
стр. 28



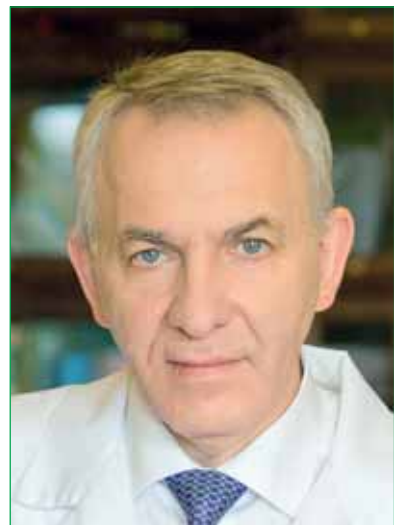
Андрей Каприн:
РАДИОТЕРАПИЯ
И ЯДЕРНАЯ МЕДИЦИНА
стр. 76



Игорь Довгань:
ОБЪЕДИНЕНИЕ ПРИРОДНЫХ
ВОЗМОЖНОСТЕЙ, НОВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ
И МЕДИЦИНСКОГО ОПЫТА
стр. 102



ИНВЕСТИЦИИ В ЗДРАВООХРАНЕНИЕ



Сегодня в онкологии происходит колоссальный прорыв. При многих формах рака, которые раньше казались фатальными, люди живут годами. Существуют десятки наименований препаратов, которые могут быть использованы при наличии той или иной злокачественной мутации. Это свидетельствует о том, что мы движемся к точной персонализированной медицине, когда диагноз индивидуален, базируется на молекулярных механизмах, когда против конкретной мишени применяется конкретный препарат.

По моему убеждению, технология CAR-T-терапии – это революция, которая кардинально изменила судьбу онкогематологических заболеваний. Эта технология впервые была утверждена сразу не только для взрослых, но и детей, и очень перспективна. В Центре Алмазова ведутся доклинические исследования первого отечественного препарата клеточной противоопухолевой терапии, есть данные о получении CAR-T-клеток, обладающих реальным терапевтическим потенциалом.

Академик РАН, заслуженный деятель науки Российской Федерации, генеральный директор ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, президент Российского кардиологического общества, главный кардиолог Санкт-Петербурга и Северо-Западного федерального округа
Евгений Шляхто

Институт гематологии ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России

Институт гематологии НМИЦ имени В.А. Алмазова объединяет научные подразделения, проводящие фундаментальные и трансляционные исследования в области гематологии, трансфузиологии, ревматологии и инфекционных заболеваний.

Институт гематологии тесно сотрудничает с ведущими научными и клиническими учреждениями России и зарубежья в области науки, образования и клиники.

Научные исследования научно-исследовательской лаборатории онкогематологии посвящены изучению биологических особенностей и оптимизации подходов к терапии наиболее распространенных типов гемобластозов: хронического миелолейкоза, Ph-негативных миелопролиферативных заболеваний, хронического лимфолейкоза, острых миелобластных лейкозов и множественной миеломы.



РФ, 197341, г. Санкт-Петербург,
ул. Аккуратова, д. 2
Тел.: (812) 702-68-28
Факс: (812) 702-37-65
Сайт: www.almazovcentre.ru

Трансплантация костного мозга в НМИЦ имени В.А. Алмазова



Директор Института гематологии ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, доктор медицинских наук, профессор

Андрей Зарицкий



Врач-гематолог отделения химиотерапии онкогематологических заболеваний и трансплантации костного мозга № 2, кандидат медицинских наук

Дмитрий Моторин



Научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории онкогематологии Института гематологии ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России

Алексей Петухов

При многих онкогематологических заболеваниях единственным методом, способным дать полное излечение, остается аллогенная трансплантация костного мозга (ТКМ). Важным условием применения алло-ТКМ является наличие полностью HLA-совместимого донора, родственного или неродственного. Наличие родственного HLA-совместимого донора, согласно статистическим данным, возможно примерно у 20–30 % пациентов. Шансы найти неродственного HLA-совместимого донора зависят от наличия и доступности регистров неродственных доноров, а также от распространенности HLA-аллелей пациента в популяции.

Несмотря на то что количество доноров в регистрах постоянно увеличивается, поставителям некоторых этнических групп и рас труднее других найти подходящего донора. Даже при найденном доноре в международном регистре требуется несколько месяцев для получения трансплантата (подтверждающее типирование, обследование донора, заготовка стволовых клеток, транспортировка и т.п.).

Все вышеперечисленное сильно ограничивает количество пациентов, которым проводится алло-ТКМ. При крайне агрессивном течении заболевания любое промедление в сроках ТКМ снижает эффективность лечения. А в случае рефрактерного течения за-

болевания или наличия раннего рецидива у пациента нет возможности ждать несколько месяцев до проведения алло-ТГСК.

Выходом из сложившейся ситуации может быть проведение гаплогенной родственной аллогенной ТКМ (гапло-ТКМ). При этом виде трансплантации достаточно 50 % совпадения по антигенам тканевой совместимости между донором и реципиентом. В качестве доноров могут выступать родственники 1-й линии (дети, родители), поскольку дети, например, наследуют по одному гаплотипу (набору генов) от каждого родителя. Такой подход позволяет найти родственного донора практически у 90 % пациентов.

Применение гапло-ТКМ в Центре Алмазова позволило увеличить количество пациентов, которым производится аллогенная ТКМ, и существенно сократить период ожидания трансплантации.

По нашим наблюдениям, данные общей выживаемости после гапло-ТКМ сравнимы с данными трансплантаций от полностью HLA-совместимых доноров, а в чем-то даже их превосходят. На данный момент доля гапло-ТКМ, выполняемых в НМИЦ имени В.А. Алмазова, составляет 80–90 % от всех аллогенных трансплантаций.

Следует отметить, что для результата трансплантации важно максимальное уменьшение объема опухолевой массы перед ТГСК, что достигается проведением химиотерапии. В случае рецидивирующих лейкозов или наличия химиорефрактерности проведение дополнительных курсов химиотерапии подчас затруднительно или невозможно.

Для проведения аллогенной ТКМ крайне необходимо достичь ремиссии заболевания, что требует подчас проведения нескольких курсов высокодозной химиотерапии. Шансы достичь 2-й ремиссии у пациентов с первым рецидивом острого миелобластного

лейкоза (ОМЛ) составляют менее 45 %. На фоне проведения высокодозной химиотерапии могут возникнуть различные осложнения (инфекционные, геморрагические), что приводит к определенной летальности, а порой и невозможности проведения дальнейшей алло-ТКМ. Известно, что пациенты с ОМЛ, получившие более пяти курсов химиотерапии (ХТ) перед ТКМ, имеют заведомо худшую выживаемость, чем получившие два и менее курсов ХТ.

Выходом из подобной ситуации может стать проведение короткого курса химиотерапии с целью циторедукции опухолевой массы с последующей гапло-ТКМ, не дожидаясь восстановления гемопоэза.

Чтобы снизить риски инфекционных осложнений и увеличить количество пациентов, которым может быть проведена гапло-ТКМ, нами был использован метод терапии, который заключается в проведении циторедуктивной химиотерапии с последующим проведением гаплогенной ТГСК с немиелоаблативным режимом кондиционирования и профилактикой РТПХ высокодозным циклофосфаном, циклоспорином-А и микофенолатом мофетиллом.

Даже при кратком рассмотрении преимуществ, что позволяет:

- уменьшить количество курсов химиотерапии перед гапло-ТКМ (снизить количество койко-дней, потребности в антибактериальной и противогрибковой терапии);
- снизить количество госпитализаций, необходимых для предварительного достижения ремиссии перед ТКМ;
- увеличить количество пациентов, которым может быть проведена гапло-ТКМ (что улучшит общую выживаемость при данных нозологических формах);



Пациент Центра Алмазова, которому была проведена гаплотрансплантация в 2014 году, и врач-гематолог, к.м.н. Д.В. Моторин

- сократить время от выявления показаний до проведения ТКМ (90 % шансы найти высокомотивированного донора);
- высвободить средства, которые тратились на дорогостоящее HLA-типирование высоким разрешением при поиске неродственного донора, а также на его активацию и заготовку трансплантата (часто из зарубежных регистров доноров).

При разработке методики гапло-ТКМ нами были применены определенные разработки и модификации, позволяющие улучшить результаты ТКМ. Так, в качестве режима кондиционирования при гапло-ТКМ используется широкодоступный алкилирующий препарат «Мелфалан» вместо применяемого ранее тотального облучения тела в дозе 2 Гр.

С целью снижения токсичности высокодозного циклофосфана у ослабленных пациентов, в рамках профилактики РТПХ, введение препарата нужно производить в дни +3 и +5 вместо +3 и +4.

В режиме профилактики РТПХ используется препарат «Циклоспорин-А» вместо «Такролимуса», как имеющий более широкое распространение, меньшую стоимость и удобную методику определения сывороточной концентрации.

При сравнении полученных результатов гапло-ТКМ и родственной полностью HLA-совместимой трансплантации у пациентов с острым миелобластным лейкозом, бластным кризом хронического миелолейкоза и рефрактерных форм болезни Ходжкина не было получено различий в беспрогрессивной и общей выживаемости. Это свидетельствует о том, что гапло-ТКМ может и должна более широко применяться в качестве эффективного метода лечения у пациентов с потребностью в аллогенной ТКМ.

Обсуждая применение гапло-ТКМ, необходимо упомянуть и о том, что эта методика служит хорошей платформой для разработки различных методов профилактики и лечения рецидивов путем применения таргетной и клеточной иммунотерапии. В частности, при гапло-ТКМ применяются профилактические и терапевтические введения донорских лимфоцитов как в моноварианте, так и в комбинациях с различной иммуномодулирующей терапией (моноклональные антитела, гипометилирующие препараты, ингибиторы тирозинкиназ и др.).

Одним из наиболее перспективных направлений в этой области является использование иммуноадаптивной терапии.

Иммуноадаптивная терапия: CAR-T-клетки

Хотя иммуноадаптивная терапия известна уже довольно давно, активное ее внедрение в клиническую практику лечения онкогематологических заболеваний

началось примерно с 2014 года. В терапии В-клеточных опухолей исключительный эффект продемонстрировало новое направление иммуноадаптивной терапии – CAR-T-клетки. CAR-T представляет собой Т-лимфоцит, в геном которого внедрен ген CAR (химерного антигенного рецептора). Внеклеточный домен данного рецептора обеспечивает распознавание мишени (например, CD19), а внутриклеточный – активирует CAR-T, что ведет к уничтожению злокачественной клетки. С целью увеличить доступность данной терапии и в будущем организовать сходное производство в Российской Федерации, Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова совместно с отечественной биофармацевтической компанией BIOCAD разрабатывает новые подходы к CAR-T-терапии.

На текущий момент сотрудниками Института гематологии Центра Алмазова уже получены anti-CD19 CAR-T, которые потенциально терапевтически применимы в лечении В-клеточных неоплазий, исследована их цитотоксичность.

Для внедрения в геном Т-клеток здорового донора гена CAR данные клетки подвергались лентивирусной трансдукции. Жизнеспособность Т-лимфоцитов на 3-й день после проведения трансдукции достигала 91,87 %. Экспрессия репортерного белка GFP, с помощью которого оценивалась эффективность трансдукции, в жизнеспособных Т-лимфоцитах составляла 50,87 %. Таким образом, трансдукция осуществлялась с достаточной для клинического приложения эффективностью и не являлась токсичной для клеток.

Технология CAR-T-терапии – это революция, которая кардинально изменила судьбу онкогематологических заболеваний. В Центре Алмазова ведутся доклинические исследования первого отечественного препарата клеточной противоопухолевой терапии, есть данные о получении CAR-T-клеток, обладающих реальным терапевтическим потенциалом.

Для оценки цитотоксических свойств CAR-T проводилось совместное культивирование данных клеток со специально созданной генно-инженерной линией клеток-мишеней K562-CD19+ (экспрессирующих антиген-мишень CD19). В качестве отрицательного контроля использовалась исходная линия K562.

Также была оценена концентрация цитокинов (IL2, IL4, IL6, IL10, TNF и IFN γ) в культуральной среде при совместном культивировании CAR-T с CD19+/- клетками-мишенями. При культивировании CAR-T с CD19+ клеточной линией, по сравнению с контрольной группой (CD19-отрицательной), значительно увеличивалась концентрация IL2, TNF, IFN γ , в то же время концентрация IL6, IL10, IL4 изменялась незначительно. Данный факт также подтверждает активацию CAR-T в присутствии антигена-мишени и отражает спектр продуцируемых данными клетками цитокинов. При этом важно заметить, что различия в концентрации IL6 между контрольной и экспериментальной группой заметно меньше различий в концентрации других цитокинов между этими группами (IFN γ , IL2, TNF).

Получение потенциально клинически применимых CAR-T-клеток является первым шагом к развитию технологии адаптивной иммунотерапии в Российской Федерации. Результаты доклинических исследований первого отечественного препарата клеточной противоопухолевой терапии были представлены сотрудниками Института гематологии ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России на XIV конференции «Злокачественные лимфомы» (Москва, октябрь 2017 года).

Впервые в России были приведены данные о получении CAR-T-клеток, обладающих реальным терапевтическим потенциалом для CD19+ онкогематологических заболеваний. Пересадка таких клеток больному дает сильный противоопухолевый эффект и даже приводит к полному устранению злокачественного процесса. CAR-T-клетки могут сохраняться в организме пациента более года, обеспечивая тем самым надежный противоопухолевый иммунитет и предотвращая рецидивы заболевания.

Доклад специалистов «Anti-CD19 CAR-T: опыт получения и первичное тестирование продукта» был удостоен на конференции диплома III степени. В представленной российской специалистами работе продемонстрирована способность CAR-T-клеток разрушать CD19-позитивные клетки, делиться и секретировать биологически активные вещества (IL2, TNF, IFN γ) in vitro.

В настоящее время разработка данного метода терапии в Центре Алмазова продолжается, ведутся исследования, направленные на получение универсальных CAR-T-клеток, изучаются механизмы устойчивости солидных опухолей к CAR-T-терапии. Также реализуется стратегия, направленная на снижение токсичности CAR-терапии и получение аллогенного off-the-shelf препарата, производство которого значительно увеличит экономическую эффективность данной терапии.

Добавим, что сегодня в мире наибольший опыт использования CAR-T-клеток накоплен у пациентов с онкологическими заболеваниями крови. В 2017 году впервые в США одобрены два препарата для лечения CD19-позитивных острых лимфобластных лейкозов и В-клеточной крупноклеточной лимфомы.

Таким образом, в настоящее время в нашем Центре накоплен самый большой опыт в России по применению гапло-ТКМ и активно идет изучение иммуноадаптивной клеточной терапии, в т.ч. CAR-T-клеток. В будущем мы планируем активно развивать эти направления, помогая распространению методик, способных подарить здоровье большому количеству наших пациентов.▲



Смена среды после трансфекции клеток продуцентов вирусов. А.В. Петухов