

Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии

2011 • том 10 • №2

Н а у ч н о - п р а к т и ч е с к и й ж у р н а л

Ликопид в иммунотерапии опухолей: обзор экспериментальных исследований

И.Г.Козлов, Е.В.Воронина, Т.И.Валякина, М.А.Симонова,
С.В.Гурьянова, Е.А.Мещерякова, Т.М.Андропова

On-line версия журнала
<http://www.phdynasty.ru>

Ликопид в иммунотерапии опухолей: обзор экспериментальных исследований (обзор литературы)

И.Г.Козлов^{1,2}, Е.В.Воронина³, Т.И.Валякина⁴, М.А.Симонова⁴,
С.В.Гурьянова⁴, Е.А.Мещерякова⁴, Т.М.Андропова⁴

¹Российский государственный медицинский университет им. Н.И.Пирогова Росздрава, Москва;

²Федеральный научно-клинический центр детской гематологии,
онкологии и иммунологии Минздравсоцразвития России, Москва;

³ЗАО «ПЕПТЕК», Москва;

⁴Институт биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Москва;

В обзоре литературы представлены иммунные механизмы и результаты экспериментальных исследований противоопухолевой активности глюкозаминилмурамилдипептида (ГМДП) на различных клеточных культурах и в моделях перевиваемых опухолей. Показана способность ГМДП снижать пролиферацию опухолевых клеток *in vitro*, а также угнетать рост экспериментальных опухолей и их метастазирование *in vivo*, что в целом выражается в увеличении продолжительности жизни экспериментальных животных. Данные эффекты ГМДП обусловлены его способностью активировать врожденный иммунитет и увеличивать экспрессию опухолевых маркеров на трансформированных клетках. Кроме того, приведены доказательства потенцирующего действия ГМДП на эффекты цитостатических препаратов и его способности восстанавливать гемопоэз, нарушенный в результате химио- и лучевой терапии.

Ключевые слова: иммунотерапия опухолей, глюкозаминилмурамилдипептид, метастазирование, гемопоэз, цитостатические препараты

Licopid in immunotherapy of tumors: Review of experimental research (Review of literature)

I.G.Kozlov^{1,2}, E.V.Voronina³, T.I.Valyakina⁴, M.A.Simonova⁴,
S.V.Guryanova⁴, E.A.Meshcheryakova⁴, T.M.Andronova⁴

¹Russian State Medical University, Moscow;

²Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology, Moscow;

³PEPTEK Firm, Moscow;

⁴M.M.Shemyakin and Yu.A.Ovchinnikov Institute of Organic Biochemistry, Moscow;

This review presents the immunological mechanisms and results of experimental research of antitumor activity of glucosaminylmuramyl dipeptide (GMDP) in cell cultures and transplanted tumors. The drug reduced tumor cell proliferation *in vitro* and inhibited experimental tumor growth and metastatic growth *in vivo*, which was generally seen from a longer life span of experimental animals. These effects of GMDP are explained by its stimulation of congenital immunity and of tumor marker expression on transformed cells. In addition, the paper presents evidence of the drug potentiation of the cytostatics' effects and of its capacity to restore hemopoiesis disordered after chemoradiotherapy.

Key words: tumor immunotherapy, glucosaminylmuramyl dipeptide, metastatic growth, hemopoiesis, cytostatics

Для корреспонденции:

Козлов Иван Генрихович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии Российского государственного медицинского университета Росздрава, вице-президент Российского научного общества иммунологов, заведующий лабораторией экспериментальной иммунологии и иммунофармакологии Федерального научно-клинического центра детской гематологии, онкологии и иммунологии Минздравсоцразвития России

Адрес: 117997, Москва, Островитянова, 1

Телефон: (495) 434-6212

E-mail: immunopharmacology@yandex.ru

Статья поступила 19.04.2011 г., принята к печати 10.05.2011 г.

Современная стратегия противоопухолевой иммунотерапии (ИТ) базируется на огромном фактическом материале и детальном изучении различных способов, с помощью которых иммунная система в нормальном организме уничтожает постоянно возникающие в течение жизни опухолевые клетки. При разработке методов противоопухолевой терапии широко используются достижения в области молекулярной и клеточной биотехнологии. Однако следует отметить, что пока ни в одном из направлений противоопухолевой ИТ не достигнуто конечного (оптимального) результата и многие из предлагаемых способов или еще не вне-

дрены в клиническую практику, или недостаточно широко и долго применяются для того, чтобы сделать однозначное заключение об их эффективности [1].

Стратегические направления противоопухолевой ИТ

В настоящее время все опубликованные методы ИТ опухолей можно разделить на активные и пассивные, специфические и неспецифические.

Активная ИТ – это индукция противоопухолевого иммунитета за счет стимулирующего воздействия на одно или несколько звеньев иммунной системы. Она может быть специфической – формирование противоопухолевых антиген-специфических клонов клеток – и неспецифической (адьювантной) – антиген-независимая активация иммунной системы, направленная на усиление противоопухолевого иммунитета. К активной специфической ИТ относятся:

- противоопухолевые вакцины;
- лимфокинактивированные киллеры;
- опухолеинфильтрирующие лимфоциты.

Конечной целью активной специфической ИТ является формирование адаптивного иммунного ответа с образованием большого количества цитотоксических опухолеспецифических Т-лимфоцитов. Главная проблема при разработке эффективных методов этого вида ИТ состоит в слабой иммуногенности многих типов опухолей, что обусловлено низкой интенсивностью экспрессии специфических опухолевых антигенов (или даже полным их отсутствием) [2–3].

К активной неспецифической ИТ относится использование:

- цитокинов (интерферон- γ – IFN- γ , колониестимулирующие факторы, IL-2);
- нецитокиновых адьювантов (мурамилпептиды – МП, вакцина БЦЖ, гидроксид алюминия, неполный адьювант Фрейнда, динитрофенил).

Активная неспецифическая ИТ менее селективна по сравнению со специфической и преследует цель активировать работу всей иммунной системы с расчетом на усиление в том числе и противоопухолевого иммунитета. Основными слабыми точками данного вида ИТ являются недостаточная активность и ограниченный спектр имеющихся стимуляторов и «распыленность» ответа на них, что может привести к неэффективному расходованию ресурсов иммунной системы и преждевременному ее истощению [4].

Пассивная (заместительная) ИТ – это введение в организм пациентов противоопухолевых иммунопрепаратов; не рассчитана на включение в процесс элиминации опухолевых клеток собственной иммунной системы. Она также может быть специфической с использованием терапевтических моноклональных антител к опухолевым антигенам (алемтузумаб, ритуксимаб, цетуксимаб и др.) и неспецифической с применением цитокинов, оказывающих прямое противоопухолевое действие [IFN- α и IFN- β , фактор некроза опухоли- α (tumor necrosis factor- α – TNF- α)].

Пассивная специфическая ИТ является наиболее динамично развивающимся на сегодняшний день направлением. Более 15 терапевтических моноклональных антител за последние годы внедрено в онкологическую практику [5]. Однако этот вид ИТ остается достаточно материально затратным и имеет те же ограничения, что и активная специфическая ИТ.

Наконец, как показывает опыт, пассивная неспецифическая ИТ может использоваться лишь при очень ограниченном числе онкологических заболеваний. Это связано прежде всего с небольшим спектром существующих препаратов, и, к сожалению, расширения этого спектра в ближайшее время ожидать не приходится [6].

МП в адьювантной ИТ опухолей

Среди наиболее привлекательных вариантов активной неспецифической ИТ опухолей можно выделить методы с применением нецитокиновых адьювантов, в частности МП. В отличие от цитокиновых адьювантов МП – это относительно небольшие молекулы, которые могут быть получены синтетическим путем, что значительно снижает стоимость производства. Кроме того, у данной группы препаратов есть целый ряд фармакокинетических преимуществ по сравнению с цитокинами: возможность энтерального приема (*per os*, сублингвально), более длительный период полувыведения (уменьшение кратности приема), низкая токсичность, небольшая частота и выраженность побочных реакций.

Экспериментальные и клинические исследования противоопухолевой активности различных аналогов МП активно ведутся на протяжении последних двух десятилетий [7–12]. Одним из промежуточных результатов этих исследований стала регистрация в 1991 г. в Японии препарата ромуртид (romurtide, Nopia®). В настоящее время в странах Европы и США зарегистрированы липосомальные лекарственные формы еще двух МП: мурамилтрипептида (mifamurtide, Mepact®) и DTP-GDP (ImmTher). Оба лекарственных препарата признаны Управлением по контролю за пищевыми продуктами и лекарственными средствами США (Food and Drug Administration – FDA) орфанными. Основными показаниями для их назначения являются остеосаркома (mifamurtide, ImmTher), саркома Юинга (ImmTher) и колоректальная аденокарцинома с наличием метастазов в легкие и печень (ImmTher) [13, 14].

В России экспериментальные исследования противоопухолевой активности различных аналогов МП также имеют многолетнюю историю [15–20]. Наиболее изученным среди МП является глюкозаминилмурамилдипептид (ГМДП) и его лекарственная форма – препарат Липоид® («ПЕПТЕК», Россия, регистрационный номер ЛС-001438). По структуре ГМДП представляет собой полусинтетический аналог МП с дополнительным сахарным остатком (N-ацетилглюкозамин) и отличается более благоприятными по сравнению с исходной молекулой МП биологическими и фармакологическими свойствами. Кроме того, в природе ГМДП является минимальным биологически активным фрагментом пептидогликана, входящего в состав клеточных стенок грамположительных и грамотрицательных бактерий.

Анализ накопленного фактического материала позволил к настоящему времени выделить несколько механизмов, лежащих в основе противоопухолевой активности ГМДП.

Активация противоопухолевого иммунитета под влиянием ГМДП

Безусловно, основным механизмом противоопухолевого действия ГМДП является активация под его влиянием врожденного и приобретенного иммунитета. На сегодняшний день этот механизм изучен наиболее подробно (см. рисунок).



Рисунок. Механизм иммуностимулирующей активности ГМДП.

Способность ГМДП активировать иммунную систему связана с наличием в цитоплазме иммунокомпетентных клеток специфических NOD2-рецепторов, которые наряду с Toll-подобными и NALP рецепторами объединены в группу так называемых паттернраспознающих рецепторов врожденного иммунитета [21, 22]. NOD2-рецепторы обнаружены в основном в фагоцитирующих клетках – моноцитах/макрофагах, гранулоцитах и дендритных клетках, обеспечивающих, как известно, начальные и конечные фазы иммунного ответа.

Связывание ГМДП с NOD2-рецепторами приводит к серии событий внутри клетки, которая заканчивается активацией фактора транскрипции NF-κβ. Последний проникает в ядро и включает множество генов, индуцирующих и поддерживающих иммунный ответ, и в частности генов провоспалительных цитокинов. Цитокины в свою очередь вызывают стимуляцию эффекторных функций самих фагоцитов (фагоцитоз, цитотоксичность, продукция активных форм кислорода, повышение синтеза лизосомальных ферментов, презентация антигенов) и индуцируют размножение и созревание клеток приобретенного иммунитета – Т- и В-лимфоцитов. У активированных Т-клеток наблюдается усиление цитотоксического потенциала, а В-лимфоциты увеличивают синтез иммуноглобулинов (антител). Интерес представляет тот факт, что эффекты ГМДП усиливаются при комбинировании с паттернами, распознаваемыми Toll-подобными рецепторами (липолисахариды, синтетический липид А) [23].

Таким образом, ГМДП каскадно активирует все звенья иммунной системы, что в итоге приводит к усилению противоинфекционного (антибактериального, противовирусного, противогрибкового) и противоопухолевого иммунитета.

Эффективность ГМДП в терапии опухолей, происходящих из различных тканей, многократно была подтверждена с привлечением ряда экспериментальных моделей [15, 17, 20, 23–25].

Первые сообщения о противоопухолевой активности ГМДП появились еще в начале 80-х годов XX века в работах Л.И.Ростовцевой и И.Б.Сорокиной [15, 16]. Авторы показали, что однократное введение ГМДП в дозах от 0,5 до 100 мг/кг тормозило рост солидной опухоли S-180 у мышей на 16–70%. В дальнейшем ингибирующее действие ГМДП на рост перевиваемых солидных опухолей было продемонстрировано для фибросаркомы Meth A [23], карциномы легких Льюиса и меланомы B16 [20, 24–26]. При этом выраженность эффекта ГМДП зависела от дозы и схемы назначения и возрастала при увеличении кратности введения препарата.

Противолейкемическое действие ГМДП было изучено на мышах, зараженных вирусом лейкоза Раушера, при внутривенном введении препарата в дозе 1 мг [27]. Эффективность действия ГМДП в данной серии опытов также зависела от схемы введения препарата и от линии мышей (табл. 1).

Оценка антиметастатического действия ГМДП проводилась в двух независимых исследованиях на мышинной модели карциномы легких Льюиса [25, 26]. В первой работе использовались 2 режима введения препарата: профилактический (3 раза за неделю до имплантации опухоли) и пролонгированный (к первым 3 введениям еще дополнительно 4 введения после имплантации). Оба режима введения ГМДП приводили не только к уменьшению числа животных с метастазами, но и более чем к 4-кратному снижению количества самих метастазов в пересчете на одно животное [25].

Во втором исследовании ГМДП (в дозе 62,5 мкг/кг) назначали в липосомальной форме животным с удаленной первичной опухолью [26]. В этой серии экспериментов 4 введения ГМДП, начиная с 4-х суток после удаления первичной опухоли, приводили к уменьшению размера метас-

Таблица 1. Противоопухолевое действие ГМДП на мышах, зараженных вирусом лейкоза Раушера (цит. по [27])

Линия мышей	Интервал между заражением и введением ГМДП, дни	Эффект
BDF1	18	Увеличение продолжительности жизни в 3 раза
BDF1	31	Излечение
C57/Bl	0	Излечение
BALB/c	7	Увеличение продолжительности жизни в 1,5 раза
BALB/c	19 и 32*	Увеличение продолжительности жизни в 1,6 раза (по сравнению с группой животных, получавших только Сph, – в 1,2 раза)

*ГМДП назначали на фоне лечения животных Сph.

Таблица 2. Влияние липосомальной формы ГМДП на продолжительность жизни мышей с удаленной первичной опухолью (цит. по [26])

Группа	Срок после прививки опухоли, сутки			
	30-е	60-е	90-е	120-е
Контрольная (без лечения), n = 25	11	0	0	0
ГМДП, n = 25	23	18	17	14

тазов в легких в 7,5 раза и их количества в 2,4 раза по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе животных. Увеличение числа введений ГМДП до 8 давало максимальный антиметастатический эффект: размер метастазов уменьшался в 14 раз ($405,2 \pm 45,0 \text{ мм}^3$ в контрольной группе и $28,4 \pm 3,5 \text{ мм}^3$ в опытной группе животных), а их количество – в 3,5 раза ($38,0 \pm 2,4$ в контрольной группе и $10,7 \pm 0,8$ в опытной группе животных). Дополнительное введение ГМДП (8 инъекций) привело к максимально положительному эффекту в плане отдаленных последствий: через 150 дней после перевивки опухолевых клеток в опытной группе животных выжили 56% мышей, тогда как в контрольной группе все животные погибли через 40 дней (табл. 2).

Влияние ГМДП на экспрессию опухолевых антигенов

Помимо активации противоопухолевого иммунитета в литературе описана способность ГМДП повышать экспрессию опухолеассоциированных антигенов (ОАА) на трансформированных клетках, что увеличивает иммуногенность последних и существенно повышает вероятность развития эффективного противоопухолевого иммунного ответа [28–31].

Результаты исследования индуцированной ГМДП экспрессии ОАА, полученные для 4 линий опухолевых клеток человека разных гистологических типов (меланома BRO, аденокарцинома легкого A-549, карциномы толстой кишки WIDR и молочной железы MaTu), оказались сходными [29]. Инкубация *in vitro* опухолевых клеток с ГМДП вызывала дозозависимое изменение как числа клеток, экспрессирующих ОАА, так и средней плотности антигенов на клеточной поверхности [30, 31]. Дозозависимость, как и для других эффектов ГМДП, носила гауссовский характер распределения (т.е. оптимальный эффект достигался при средних дозах), причем максимальная экспрессия ОАА разными линиями опухолевых клеток вызывалась различными концентрациями пептида; различалась и амплитуда ответа. Одним из результатов изменений спектра антигенов явилось усиление цитолиза опухолевых клеток меланомы BRO мононуклеарными клетками периферической крови доноров *in vitro* [30].

Описанный выше эффект был подтвержден клинически в пилотном рандомизированном плацебо-контролируемом исследовании эффективности ГМДП у пациентов с распространенными некурабельными формами колоректального рака (госпиталь Святого Георгия, Сидней, Австралия; проводилось с разрешения этического комитета – Southern Sydney

Area Health Service Ethics Committee) [32]. ГМДП применялся сублингвально, 1 таблетка (1 мг) в течение 6 дней. На ранних сроках лечения ГМДП в плазме крови пациентов отмечалось быстрое нарастание концентрации раково-эмбрионального антигена (СЕА), которая достигала максимальных значений к 21-му и 28-му дням наблюдения и была статистически значимо выше, чем в группе пациентов, получавших плацебо ($p = 0,015$) [32, 33].

Усиление фармакологических эффектов цитостатических препаратов под влиянием ГМДП

Наряду с предыдущими двумя механизмами, которые обеспечивают противоопухолевую активность ГМДП, в нескольких экспериментальных моделях было показано, что препарат потенцирует действие цитостатических препаратов при совместном добавлении в культуры клеток или комбинированном введении животным с привитыми опухолями. Учитывая то, что многие цитостатические препараты дают мощный иммуносупрессивный эффект, механизм потенцирующего действия ГМДП остается до конца не ясным.

В большинстве работ, посвященных изучению эффективности комбинированной противоопухолевой терапии с использованием ГМДП, в качестве цитостатических средств использовали цисплатин (CDDP) и/или TNF- α . Способность ГМДП усиливать фармакологическое действие CDDP и/или TNF- α была продемонстрирована на моделях аденокарциномы Эрлиха (АКЭ), меланомы B-16 и лимфолейкоза P-388 [20, 34, 35]. Кроме того, в нескольких исследованиях была доказана эффективность комбинированной терапии циклофосфаном (Cph) и ГМДП [25, 36].

Наиболее показательными с точки зрения потенцирования действия цитостатических препаратов под влиянием ГМДП являются результаты комбинированной терапии АКЭ, включающей ГМДП, CDDP и TNF- α . Для индукции опухоли мышам линии Balb/c внутрибрюшинно вводили опухолевые клетки в различных количествах: 1, 2 или 10 млн на мышь [20]. Через 2 сут после введения опухолевых клеток проводили инъекции препаратов и их комбинаций. Эффективность терапии оценивали по выживаемости мышей в течение 90 сут с момента имплантации опухолевых клеток. В первой серии экспериментов ГМДП вводили в дозе 160 мкг, TNF- α – 5000 ед., а CDDP – 40 мкг на мышь. При введении ГМДП в указанной дозе к 30-м суткам были живы 40% животных, к концу эксперимента – 10% животных, при введении CDDP были живы 20% мышей к концу эксперимента, тогда как использование комбинации двух препаратов обеспечивало

Таблица 3. Противоопухолевая активность CDDP, TNF- α и ГМДП и их комбинаций при инъекции мышам клеток АКЭ в количестве 1 млн (цит. по [20])

Препарат или комбинация препаратов	0	10-е	20-е	30-е	Длительность наблюдения, сутки					
					40-е	50-е	60-е	70-е	80-е	90-е
Контрольная группа	100	100	100	20	20	20	20	0	0	0
Экспериментальная группа										
ГМДП	100	100	100	40	30	20	20	20	10	10
TNF- α	100	100	100	80	40	40	20	10	0	0
TNF- α + ГМДП	100	100	100	100	80	70	50	40	30	30
CDDP	100	100	100	30	20	20	20	20	20	20
CDDP + TNF- α	100	100	100	80	70	55	55	55	55	55
CDDP + ГМДП	100	100	100	100	100	100	100	100	80	80
CDDP + TNF- α + ГМДП	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Каждая группа включала по 8–10 животных.

Таблица 4. Противоопухолевая активность ГМДП в дозах от 0,05 до 15 мкг при инъекции мышам клеток АКЭ в количестве 10 млн (цит. по [20])

Препарат или комбинация препаратов	Длительность наблюдения, сутки									
	0	10-е	20-е	30-е	40-е	50-е	60-е	70-е	80-е	90-е
Контрольная группа	100	70	60	0	0	0	0	0	0	0
Экспериментальная группа										
CDDP	100	80	70	20	10	10	10	0	0	0
CDDP + TNF- α	100	40	40	0	0	0	0	0	0	0
CDDP + ГМДП 0,05 мкг + TNF- α	100	100	100	100	100	100	80	80	80	80
CDDP + ГМДП 0,15 мкг + TNF- α	100	80	80	60	40	40	40	40	40	40
CDDP + ГМДП 1,5 мкг + TNF- α	100	60	60	40	40	40	40	40	40	40
CDDP + ГМДП 15 мкг + TNF- α	100	80	80	60	60	60	60	60	60	60

Мышам с опухолями внутривенно вводили препараты ГМДП (0,05, 0,15, 1,5 и 15 мкг на мышь), TNF- α (500 ед. на мышь) и CDDP (80 мкг на мышь). В каждой группе было по 10 животных.

выживаемость до 80% мышей с опухолью. Однако еще большего эффекта удалось добиться при использовании комбинации всех 3 лекарственных агентов – в течение всего срока наблюдения были живы 100% экспериментальных животных (табл. 3).

При введении клеток АКЭ в количестве 2 млн были получены аналогичные результаты: комбинация ГМДП и CDDP обеспечивала более эффективное противоопухолевое действие, к концу эксперимента были живы 70% животных, тогда как при введении одного CDDP – только 20% мышей. Лучшие результаты получены при введении всех 3 препаратов [20].

При дальнейшем увеличении опухолевой нагрузки до 10 млн клеток введение CDDP в двукратно увеличенной дозе (80 мкг на животное) обеспечивало выживаемость 10% животных к 60-му дню, к концу эксперимента все мыши погибали. ГМДП значительно повышал противоопухолевую активность CDDP, вводимого в большей дозе, к концу эксперимента были живы 80% животных [20].

Дальнейшее изучение противоопухолевой активности ГМДП проходило в диапазоне существенно более низких доз (0,05–15 мкг), при введении которых, согласно ранее полученным данным, ГМДП не вызывает развития пирогенной реакции.

Выраженность противоопухолевого эффекта комбинаций препаратов не была пропорциональна дозе ГМДП: введение комбинации препаратов с ГМДП в наименьшей исследуемой дозе 0,05 мкг приводило к наиболее выраженному противоопухолевому эффекту (табл. 4).

Для модели АКЭ с максимальной опухолевой нагрузкой более эффективными оказались схемы многократного (1 раз в неделю в течение 1 мес) введения каждого из лекарственных агентов; введение ГМДП и CDDP, а также 3 препаратов (ГМДП в дозе 0,05 мкг на мышь, CDDP 40 мкг на мышь и TNF- α 500 ед. на мышь) обеспечивало выживаемость 100% животных. В целом, тройная комбинация лекарственных агентов с определенными дозами составляющих ее препаратов при всех вариантах постановки эксперимента оказалась более эффективна, чем отдельные препараты в тех же дозах или их парные сочетания [20].

Восстановление гемопоэза под влиянием ГМДП

Наконец, важный вопрос, на котором необходимо остановиться при обсуждении возможного применения ГМДП в терапии опухолей, – это выраженная гемопоэтическая активность этого вещества. Данная активность ГМДП

обеспечивается его способностью индуцировать секрецию макрофагами гемостимулирующих цитокинов и, в частности, колониестимулирующих факторов и IL-1. Экспериментально доказано, что у животных с цитопенией, вызванной облучением или введением высоких доз цитостатических препаратов, при введении ГМДП восстановление клеточного состава крови происходит быстрее, чем в контрольной группе [37].

В экспериментах, проведенных на 330 мышах Р1 (СВА × С57В1) и 35 морских свинок, которые подверглись облучению в дозах 8,25 и 5,3 Гр при мощности дозы 1,8 Гр/мин, была выявлена способность ГМДП повышать устойчивость животных к облучению. Однократное введение ГМДП мышам в дозе 1 мг/кг за 24 ч до или через 5 ч после облучения в дозе 8,25 Гр повышало выживаемость животных (были живы 24% мышей в контрольной группе, 40 и 45,7% мышей при различных дозах облучения; $p < 0,05$). Применение ГМДП у морских свинок в дозе 0,4 мг/кг, близкой к оптимальной для мышей в пересчете на единицу поверхности тела, способствовало выживанию 59% животных, тогда как в контрольной группе выжили только 16,6% ($p < 0,01$) [37].

В другой серии экспериментов ГМДП вводили 8-кратно ежедневно подкожно из расчета 2 мг/кг мышам, подвергшимся облучению в дозе 4 Гр с мощностью дозы 2 Гр/мин. Первое введение осуществляли непосредственно после облучения. Введение ГМДП ускоряло восстановление числа ретикулоцитов: различия на 5, 7, 8 и 12-е сутки статистически значимы ($p < 0,02$ – $0,05$). Количество тромбоцитов у мышей, которым вводили ГМДП, также почти во все временные точки было выше, чем в контрольной группе животных (на 11-е сутки $p < 0,01$). В период наиболее выраженной миелосупрессии (на 4–5-е сутки) в группе животных, получавших ГМДП, количество лейкоцитов статистически значимо отличалось от такового в контрольной группе животных за счет большего количества лимфоцитов, а позднее (на 7–9-е сутки) – за счет большего количества нейтрофилов и лимфоцитов. Начиная с 8-х суток в группе животных, получавших ГМДП, также отмечено более высокое количество моноцитов. Улучшение кроветворения у мышей, которым вводили ГМДП, было связано с сохранением почти во все временные точки ядросодержащих клеток в костном мозге, изучение которого входило в протокол исследования [37].

В условиях экспериментальной цитопении, вызванной введением Срh в дозе 100 мг/кг 1 раз в сутки в течение 3 дней подряд, подкожное введение ГМДП из расчета 2 мг/кг 1 раз в сутки в течение 3 дней (экспериментальная

группа), начиная с 3-х суток, положительно влияло на состояние кроветворения у мышей. Спустя 1 сут после первого введения ГМДП у животных экспериментальной группы наблюдалось статистически значимо более высокое количество тромбоцитов (589,0 против 302,0 × 10⁹/л в контрольной группе; *p* < 0,05) и лимфоцитов. У животных, которым вводили ГМДП, отмечено полное восстановление количества лейкоцитов на 7-е сутки, количества нейтрофилов на 6-е сутки с последующим лейкоцитозом и нормализацией количества лейкоцитов и лимфоцитов к 12-м суткам. У животных экспериментальной группы по сравнению с животными контрольной группы регистрировались статистически значимо более высокие масса и клеточность тимуса на 8–12-е сутки (*p* < 0,05), а также селезенки на 6–7-е сутки (*p* < 0,05) [37].

Таким образом, в условиях экспериментальной цитопении применение ГМДП в период максимального снижения гематологических показателей (опыты с Cph) либо в начальной фазе этого периода (опыты с облучением) и далее оказывало благоприятное влияние на состояние кроветворения экспериментальных животных за счет улучшения и ускорения процессов восстановления формулы крови.

Подводя итог приведенным в данном обзоре экспериментальным данным, можно сделать заключение о возможности использования ГМДП в ИТ опухолей, успех которой обеспечивается за счет 4 механизмов действия данного препарата:

- активация врожденного и адаптивного иммунитета через стимуляцию макрофагов;
- индукция экспрессии специфических антигенов на поверхности опухолетрансформированных клеток;
- потенцирование эффекта цитостатических препаратов;
- гемопозитическая активность для восстановления показателей иммунитета после химио- и лучевой терапии.

Литература

1. Waldmann T.A. Immunotherapy: past, present and future. *Nat Med* 2003; 9(3): 269–77.
2. Pejavar-Gaddy S., Finn O. Cancer vaccines: accomplishments and challenges. *Crit Rev Oncol Hematol* 2008; 67: 93–102.
3. Rosenberg S.A., Restifo N.P., Yang J.C., et al. Adoptive cell transfer: a clinical path to effective cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 2008; 8(4): 299–308.
4. Delneste Y., Beauvillain C., Jeannin P. Innate immunity: structure and function of TLRs. *Med Sci (Paris)* 2007; 23(1): 67–73.
5. Glennie M.J., van de Winkel J.G.J. Renaissance of cancer therapeutic antibodies. *Drug Discovery Today* 2003; 8: 503–10.
6. Waldmann T.A. The biology of interleukin-2 and interleukin-15: implications for cancer therapy and vaccine design. *Nat Rev Immunol* 2007; 6(8): 595–601.
7. Barratt G.M., Pulsieux F., Yu W.-P., et al. Antimetastatic activity of MDP-L-alanyl-cholesterol incorporated into various types of nanocapsules. *Int J Immunopharmacol* 1994; 16(5–6): 457–61.
8. Kotani S., Azuma I., Tacada H., et al. Muramyl dipeptides: prospect for cancer treatment and immunostimulation. In: Klein T., et al., eds. *Biological response modifiers in human oncology and immunology*. New York: Plenum; 1983: 117–58.
9. Maeda M., Knowles R.D., Kleinerman E.S. Muramyl tripeptides phosphatidylethanolamine (MTP-PE) encapsulated in liposomes stimulates monocyte production of tumor necrosis factor and interleukin-1 in vivo. *Cancer Commun* 1991; 3(10–11): 313–21.
10. Adeleye T.A., Moreno C., Ivanyi J., Aston R. The modulation of tumour necrosis factor- α , interleukin-1 α and glucose levels with GMDP and other analogues of muramyl dipeptide. *Acta Pathol, Microbiol Immunol Scand* 1994; 102: 145–52.
11. Yano K., Matsuoka H., Seo Y., et al. Restorative effect of romurtide for thrombocytopenia associated with intensive anticancer drug treatment and/or irradiation in patients with gastrointestinal cancer. *Anticancer Res* 1995; 15(6B): 2883–7.
12. MacEwen E.G., Kurzman I.D., Vail D.M., et al. Adjuvant therapy for melanoma in dogs: results of randomized clinical trials using surgery, liposome-encapsulated muramyl tripeptide, and granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *Clin Cancer Res* 1999; 5(12): 4249–58.
13. Kleinerman E.S., Gano J.B., Johnston D.A., et al. Efficacy of liposomal muramyl tripeptide (CGP 19835A) in the treatment of relapsed osteosarcoma. *Am J Clin Oncol* 1995; 18(2): 93–9.
14. Chou A.J., Kleinerman E.S., Krailo M.D., et al. Addition of muramyl tripeptide to chemotherapy for patients with newly diagnosed metastatic osteosarcoma. *Cancer* 2009; 115: 5339–48.
15. Ростовцева Л.И., Андронина Т.М., Малькова В.П. Синтез и противоопухолевое действие гликопептидов, содержащих N-ацетилглюкозаминил-(β -1-4)-N-ацетилмурамилдисухаридное звено. *Биоорганическая химия* 1981; 7(12): 1843–58.
16. Сорокина И.Б., Малькова В.П., Ростовцева Л.И. Поиск противоопухолевых соединений среди природных и синтетических гликопептидов, моделирующих клеточные стенки бактерий. В кн.: *Актуальные проблемы экспериментальной химиотерапии опухолей. II Всесоюзное совещание*. М., 1982; 147–9.
17. Пименов А.А., Рахмилевич А.Л., Деев В.В. Активация клеточного иммунитета у мышей в норме и при опухолевом росте под действием глюкозаминилмурамилдипептида. *Вопросы медицинской химии* 1990; 36(1): 58–60.
18. Шаповал А.И. Изучение гиперчувствительности мышей-опухоленосителей к эндотоксину шоку, индуцированному комбинацией липополисахарида и мурамилдипептида. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 1993.
19. Несмеянов В.А. Глюкозаминилмурамилдипептиды: на пути к пониманию молекулярного механизма биологической активности. *Int J Immunorehabil* 1998; 10: 19–29.
20. Симонова М.А. Влияние ГМДП на биологическую активность цисплатина и фактора некроза опухолей-альфа. Автореф. дисс. ... канд. хим. наук. М., 2008.
21. Girardin S.E., Boneca I.G., Viala J., et al. NOD2 is a general sensor of peptidoglycan through muramyl dipeptide (MDP) detection. *J Biol Chem* 2003; 278: 8869–72.
22. Козлов И.Г., Тимаков М.А. Иммунотерапия: вчера, сегодня, завтра. *Педиатрия* 2009; 88(4): 143–6.
23. Shimizu T., Iwamoto Y., Yanagihara Y., et al. Combined effects of synthetic lipid A analogs or bacterial lipopolysaccharide with glucosaminylmuramyl dipeptide on antitumor activity against meth A fibrosarcoma in mice. *Int J Immunopharmacol* 1992; 14(8): 1415–20.
24. Ахматова Н.К. Молекулярные и клеточные механизмы действия иммуномодуляторов микробного происхождения на функциональную активность эффекторов врожденного иммунитета. Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. М., 2006.
25. Ахматова Н.К., Кислевский М.В. Врожденный иммунитет: противоопухолевый и противоионфекционный. М.: *Практическая медицина*, 2008.
26. Уманский В.Ю., Стефанов А.В., Бондарь О.П. и др. Эффект ГМДП, заключенного в липосомы, на метастазирование карциномы легкого Льюис. *Экспериментальная онкология* 1988; 10(5): 40–3.
27. Тер-Григорьев В.С. Исследование иммунологических механизмов противоопухолевого действия соединений – гликопептидов типа мурамилпептидов. Отчеты НИИ по биологическим испытаниям химических соединений за 1982, 1983, 1984 гг. Москва.
28. Ревазова Е.С. Мурамилдипептиды модулируют экспрессию опухолеассоциированных антигенов. *Иммунология* 1989; 4: 32–6.
29. Валякина Т.И., Малахов А.А., Макаров Е.А. Мурамилдипептиды модулируют экспрессию опухолеассоциированных антигенов. *Иммунология* 1993; 4: 32–6.
30. Valyagina T.I., Malakhov A., Malakhova N., et al. Glucosaminylmuramyl dipeptide induced changes in phenotype of melanoma cells result in their increased lysis by peripheral blood cells. *Int J Oncol* 1996; 9: 885–91.
31. Валякина Т.И., Малахов А.А., Комалева Р.Л. Дифференциальный эффект глюкозаминилмурамилдипептида на фенотип сублинй меланомы, различающихся метастатическим потенциалом. *Молекулярная биология* 1996; 30: 1394–401.
32. Preketes A.P., King J., Bolton E.J., et al. Immunological activity and serum CEA levels following oral administration of a muramyl dipeptide (GMDP) to patients with advanced colorectal cancer. The report on clinical trial. UNSW Department of Surgery, Department of Oncology, Cancer Care Centre and Haematology Department (Southpath), The St. George Hospital, Sydney, Australia; 1995.
33. Preketes A.P., et al. Immunological activity and serum CEA levels following oral administration of a muramyl dipeptide (GMDP) to patients with advanced colorectal cancer. *Surg Res Comm* 1996; 18: 137–46.
34. Petrova E.E., Valyagina T.I., Simonova M.A., et al. Muramyl peptides augment cytotoxic effect of tumor necrosis factor- α in combination with cytotoxic drugs on tumor cells. *Int Immunopharmacol* 2006; 6(9): 1377–86.
35. Petrova E.E., Simonova M.A., Komaleva R.L., et al. GMDP augments antitumor action of the CP/TNF α combination in vivo. *Biomed Pharmacother* 2010; 64(4): 240–8.
36. Андронина Т.М., Дозморов И.М., Мустафаев М.И. и др. (ред.). *Синтетические иммуномодуляторы*. М.: Наука, 1991.
37. Андриянова И.Е., Филимонова Г.И., Андронина Т.М. Влияние иммуномодулятора глюкозаминилмурамилдипептида на кроветворение мышей с экспериментальной цитопенией. *Радиобиология* 1992; 32(4): 566–70.

