

Object and methods. The analysis of operative treatment of 136 patients with GH of has been performed. Depending on the type of mesh used during surgical treatment, patients were divided into 2 groups. In 68 (50%) of Group I patients, method of placement and fixation nanomodified polypropylene mesh preperitoneally. In the 2nd group, 68 (50%) patients method of placement and fixation preperitoneally of a classic polypropylene mesh.

Results and discussion. Statistically significant results were obtained in patients of Group I compared to Group II: seroma was in 23 (33.8±1.1%) in Group II compared to 5 (7.4±0.3%) in Group I ($p<0.05$), respectively, the suppuration of the postoperative wound – 6 (8.8±0.6%) to 1 (1.5±0.3%) ($p<0.05$). The terms of stay of patients of group II on inpatient treatment – 11,1±2,1 days group II – 7,4±1,3 days.

Long-term results: ligature fistulas of the anterior abdominal wall were detected in 3 (5.4±0.6%) patients of group II, in patients of group I of the ligature fistulas were not detected ($p<0.05$), meshoma – in 2 (3.6±0.4%) of patients in group II, in group I there was no stir ($p>0.05$). Chronic pain in the abdominal wall in 6 – 8 months after surgery was observed in 4 (7.1±0.4)% patients in group II and in 1 (1.8±0.3%) group I ($p>0.05$), recurrences of hernia were found in 5 (8.9±0.5%) patients of group II, in group I – in 1 (1.5±0.3%) ($p<0.05$).

Conclusion. Operative treatment of GH method of placement and fixation nanomodified polypropylene mesh preperitoneally is more effective compared with the use of the classical polypropylene mesh, namely, reducing the frequency of seroma from 33.8±1.1% in the II group of patients to 7.4±0.3% in group I, respectively, suppurations of postoperative wounds – from 8.8±0.6% to 1.5±0.3%, inflammatory infiltrates – from 11.8±0.7% to 1.5±0.3%, ligaturial fistulas of the anterior abdominal wall – from 5.4±0.6% to 0%, meshoma – from 3.6±0.4% to 0%, chronic postoperative pain – from 7.1±0.4% to 1.8±0.3%, recurrence of hernia – from 8.9±0.5% to 1.8±0.3%.

Key words: groin hernia stomach, nanomodified polypropylene mesh, postoperative wound complications.

Рецензент – проф. Дудченко М. О.

Стаття надійшла 24.03.2020 року

DOI 10.29254/2077-4214-2020-2-156-124-128

УДК 616-006.484.04:615.277.3

Лялькін С. А., Скачкова О. В., Горбач О. І., Храновська Н. М., Сивак Л. А., Верьовкіна Н. О.

ФЕНОТИПОВІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ДЕНДРИТНИХ КЛІТИН ГЕНЕРОВАНИХ З МОНОЦИТІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ХВОРИХ НА ТРИЧІ НЕГАТИВНИЙ РАК ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ

Національний інститут раку (м. Київ)

slyalkin@yahoo.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота є фрагментом науково-дослідної роботи Національного інституту раку «Оптимізувати тактику лікування хворих на метастатичний рак грудної залози прогностично несприятливих молекулярних підтипів», № державної реєстрації 0114U000407.

Вступ. Тричі негативний рак грудної залози (ТНРГЗ) становить 10-15 % від всіх випадків раку грудної залози (РГЗ) та вирізняється агресивним перебігом, раннім метастазуванням і як наслідок, короткою тривалістю життя хворих [1-3]. Враховуючи відсутність специфічних мішеней, одним з основних методів лікування метастатичного ТНРГЗ на сьогоднішній день залишається хіміотерапія, результати застосування якої залишаються незадовільними. За даними різних дослідників [1,3,4], виживаність без прогресування пацієнток на метастатичний ТНРГЗ після першої паліативної лінії ПХТ коливається в межах 6-8 місяців, а загальна виживаність становить 15-18 місяців при вперше виявленому метастатичному ТНРГЗ та 12-16 місяців при прогресуванні після комбінованого лікування. Таким чином, пошук нових підходів лікування хворих на ТНРГЗ є дуже актуальним питанням. На наш погляд, одним з таких підходів може бути імунотерапія (ІТ), яка ґрунтується на активації та посиленні процесів специфічної імунної відповіді організму на розвиток пухлини. У більшості випадків РГЗ не належить до високоімуногенних пухлин. Однак, ТНРГЗ, за рахунок геномної нестабільності, високого мутаційного навантаження, що призводить до утворення великої кількості неоантигенів, є найбільш іму-

ногенним підтипом РГЗ [4-6]. Сучасна ІТ передбачає застосування моноклональних антитіл, так званих інгібіторів контрольних точок (checkpoint inhibitors), а також адаптивну клітинну імунотерапію, до якої відносяться протипухлинні вакцини [7,8,9,10]. З-поміж таких, перспективними є аутологічні дендритноклітинні вакцини (ДКВ) [7,8,9,10]. Різні вакцини тестували в клінічних дослідженнях I та II фази й деякі з них показали переваги в підвищенні виживаності хворих на метастатичний ТНРГЗ [5,7].

На теперішній час дендритні клітини (ДК) розглядають як найбільш потужні антигенпрезентуючі клітини. ДК ініціюють розвиток протипухлинних імунних реакцій завдяки їх здатності захоплювати, обробляти і представляти пухлино-асоційовані антигени (ПАА). Основними функціями ДК є формування або посилення імунної відповіді шляхом представлення на своїй поверхні великої кількості захоплених і процесованих ними антигенів у комплексі з молекулами МНС і рядом допоміжних молекул, які взаємодіють із рецепторами на Т-клітинах, посилюючи їх адгезію і коstimуляцію, індукуючи як первинну, так і вторинну імунну відповідь та розвиток імунологічної пам'яті [11].

Узагальнена схема створення протипухлинних вакцин на основі ДК полягає в наступному: вирощування аутологічних ДК в достатніх кількостях поза організмом (in vitro) з попередників, навантаження пухлинними антигенами, індуція їх дозрівання і введення хворому. Протипухлинний ефект досягається повторними введеннями ДК в режимі вакцинотерапії [9]. Одним із визначальних факторів ефективної

вакцинотерапії вважається вибір пухлинних антигенів, що використовуються для навантаження ДК [10]. Саме це забезпечує активну генерацію антигенспецифічних цитотоксичних Т-лімфоцитів і, як наслідок, максимальну протипухлинну імунну відповідь. На даний час проводиться низка експериментальних досліджень, де в якості джерела ПАА при навантаженні ДК використовують лінії пухлинних клітин, клітинний склад яких чітко охарактеризований та описаний спектр ПАА, що в подальшому дасть змогу модулювати імунну відповідь на пухлинні антигени [12,13].

Виходячи з вище сказаного, **метою роботи** було дослідити кількісні та фенотипові характеристики ДК моноцитарного походження, що застосовувалися в якості клітинної основи при проведенні протипухлинної імунотерапії хворих на ТНРГЗ.

Об'єкт і методи дослідження. Генерування ДК. ДК отримували з моноцитів периферичної крові 10 практично здорових людей (ПЗЛ) (у віці від 23 до 45 років ($34,9 \pm 5,4$)) і 10 хворих на метастатичний ТНРГЗ (у віці від 32 до 72 років ($59,4 \pm 4,7$)). Лейкоцити виділяли методом центрифугування в градієнті щільності фіколла «Histopaque-10077» («Sigma», США), після чого клітини ре-суспендували в середовищі RPMI-1640 («Sigma», США) з додаванням 2 мМ/л L-Gly, 100 мкг/мл стрептоміцину і 100 од/мл пеніциліну («Дарниця», Україна) і інкубували в пластиковому флаконі при температурі 37°C, 5% CO₂ протягом 2-3 годин. Після чого клітини злегка струшували і видаляли ті, які не прикріпилися, шляхом їх змивання. Концентрацію клітин доводили до $0,5 \times 10^6$ /мл середовищем культивування і додавали 1% аутологічної плазми і 100 нг/мл Г-КСФ людини («Грастим», Індія), 20 нг/мл інтерлейкіну-4 (IL-4) («Sigma», США). Термін культивування складав 8 діб в умовах CO₂-інкубатора при температурі 37°C і 5% вмісту CO₂. Ріст фактори повторно додавали до ДК на 3-ю добу культивування. На 6-ту добу культивування ДК хворих на ТНРГЗ навантажували лізатом клітин пухлинної лінії MDA-MB-231. На 7-у добу дозрівання до ДК додавали 100 нг/мл LPS («Sigma», США) і 2αb-IFN («Лаферобион», «Біофарма», Україна) в концентрації 10 тис. МО/мл. Всі маніпуляції проводилися з дотриманням правил асептики. На 8-му добу ДК відмивали в 40 мл 0,9% розчину хлориду натрію і робили підрахунок і оцінку життєздатності ДК в камері Горяєва у 0,4% розчині трипанового синього. Отримували $(1,5-3,6) \times 10^6$ клітин з життєздатністю не менше 95%, домішок лімфоцитів – не більше 20%.

Також проводився аналіз фенотипових характеристик ДК методом проточної цитофлуориметрії з використанням моноклональних антитіл до маркерів CD83, CD86, HLA-ABC мічених флуоресцеїнізотіоціанатом (ФІТЦ) і антитіл до HLA-DR, CD11c мічених фікоеритрином («Becton Coulter», США). Оцінка фенотипових характеристик клітин проводили на початковому (1-3 введення ДКВ) та кінцевому етапах (4-5 введення ДКВ) ІТ. Аналіз зразків проводили на проточному цитофлуориметрі FACS Calibur («Becton Dickinson», США) за допомогою програми Cell Quest-PRO («Becton Dickinson», США).

Культивування пухлинної лінії та отримання пухлино-асоційованих антигенів. Пухлинна лінія ТНРГЗ MDA-MB-231 була отримана нами у банку клі-

тинних ліній АТСС (Великобританія). Пухлинні клітини характеризувалися відсутністю експресії рецепторів статевих гормонів (естрогену і прогестерону), рецепторів епідермального фактору росту (HER-2/neu), високими показниками проліферації (Ki-67), інвазивності та високим ступенем злоякісності [14]. Клітини у кількості $1,35 \times 10^6$ на флакон культивували в CO₂-інкубаторі при 37°C та 5% CO₂ атмосфері. Кожен день перевіряли культуру клітин на характер росту, конфлюентність та зміну кольору культурального середовища. При зміні середовища на жовтий колір проводили заміну 75% повним культуральним середовищем.

Лізат пухлинних клітин отримували з відмитих клітин у концентрації 10⁷/мл шляхом проведення 5 циклів заморожування/відтаювання (t = мінус 20°C / плюс 37°C). Отриманий лізат центрифугували при 8000 об/хв протягом 15 хв. та використовували для навантаження ДК в об'ємі 200 мкл/флакон.

Характеристики та лікування хворих. Лікування хворих на метастатичний ТНРГЗ передбачало проведення комбінації ДКВ зі стандартною хіміотерапією вінорельбіном 25 мг/м² 1 та 8 дні 21-денного курсу. ДКВ вводили внутрішньокірно, кількість клітин на одне введення становило $(1,5-3,4) \times 10^6$. Всім хворим проводили 4-5 ін'єкцій з періодичністю 1 раз на місяць. Усі хворі надали письмову інформовану згоду на участь у дослідженні. Програма дослідження була схвалена комісією з питань етики Національного інституту раку.

Статистична обробка проводилася з застосуванням пакета програм Statistica 10.0 (StasoftInc., США). Для порівняння даних у двох групах використовували t-критерій Стьюдента і тест Манна-Уїтні. Різниця вважалася статистично достовірною при p < 0,05.

Результати досліджень та їх обговорення. Відомо, що у онкологічних хворих функціональна активність ДК отриманих з попередників, як правило, знижена. Зокрема, вони часто є нечутливими до багатьох активуючих стимулів і залишаються незрілими. Протипухлинна хіміо- та променева терапія також може знижувати ефективність і гальмувати дозрівання ДК, що, в свою чергу, може лімітувати і ускладнювати застосування ДК [15,16].

Нами було встановлено, що на початкових етапах ІТ кількість генерованих ДК хворих на ТНРГЗ була у 1,96 рази нижча по відношенню до значень практично ПЗЛ та становила $1,89 \pm 0,18 \times 10^6$ /мл та $3,87 \pm 0,32 \times 10^6$ /мл відповідно (p < 0,05). На кінцевих етапах ІТ кількість генерованих ДК дещо збільшувалась, однак ці зміни відбувались на рівні тенденції. Слід зазначити, що у всіх досліджуваних хворих нам вдалось отримати достатню кількість життєздатних ДК для проведення ІТ.

На сьогоднішній час, ще не встановлені найбільш оптимальні комбінації індукторів дозрівання ДК для їхнього використання в ІТ онкологічних хворих. Критерії оцінки характеристик ДК, що мають максимальну терапевтичну ефективність, остаточно не визначені [17,18]. А отже і протоколи одержання функціонально зрілих ДК не стандартизовані, тому пошук для одержання функціонально зрілих ДК, придатних для використання у складі протипухлинних вакцин, залишається актуальною проблемою [19].

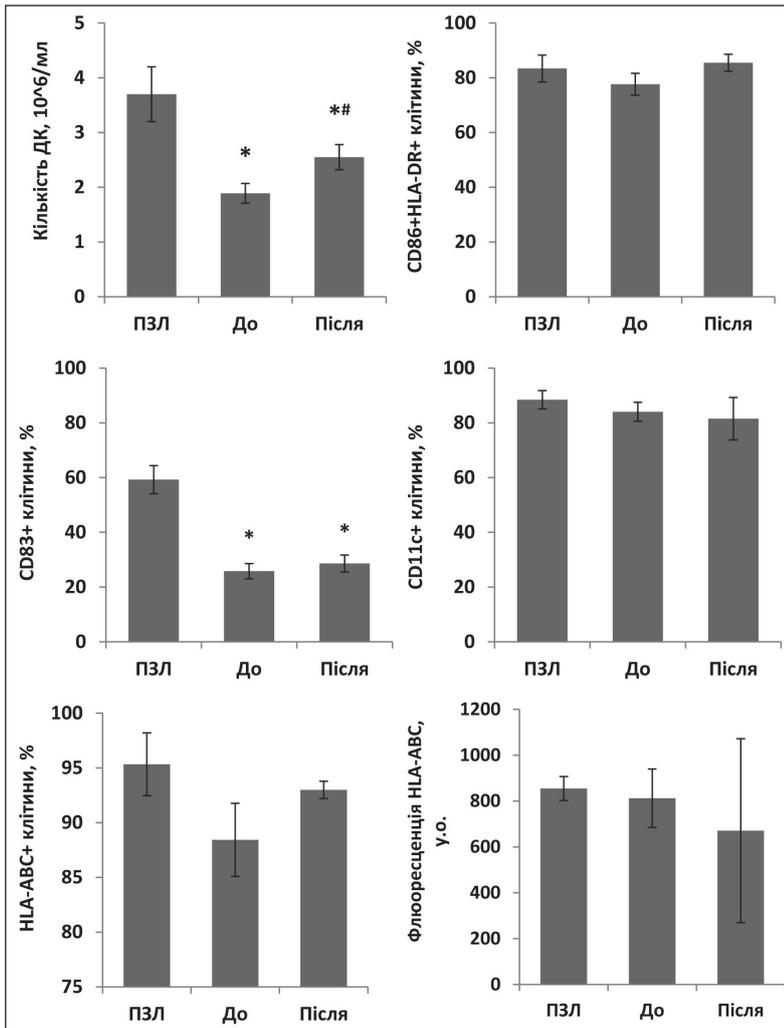


Рисунок – Кількісні та фенотипові показники генерованих дендритних клітин використаних для проведення імунотерапії хворим ТНРГЗ. Примітка. * – $p < 0,05$ у порівнянні із показниками практично здорових людей; ** – $p < 0,05$ у порівнянні із показниками до імунотерапії.

Ступінь зрілості вважається вкрай важливою характеристикою ДК при їх використанні в якості природних ад'ювантів у складі протипухлинних вакцин [20,21]. Це обумовлено тим, що використання ДК з незрілим фенотипом, які володіють слабкими імуногенними властивостями, може призводити до абортівної проліферації і енергії клітин-ефекторів та індукції толерантності до пухлинних антигенів в результаті активації CD4 і CD8 регуляторних Т-клітин, які секретують IL-10 і TGF- β . Тож нами була проведена оцінка фенотипових характеристик ДК на початковому та кінцевому етапах ІТ. Відомо, що дозрівання ДК асоційоване з експресією молекули CD83, а також посиленням експресії молекул HLA-DR та CD86. Нами було встановлено, що ДК генеровані з моноцитів периферичної крові хворих на ТНРГЗ до початку ІТ мають середню ступінь зрілості. Так, рівень експресії ко-стимуляторних молекул CD86+HLA-DR⁺ становив $77,64 \pm 3,11$ % та CD83⁺ – $28,60 \pm 2,79$ % (див. рис.) і вони цілком придатні для проведення ІТ.

Результати наших досліджень показали, що рівень ко-експресії молекул HLA-DR та CD86 на генерованих ДК хворих знаходився в межах показників ПЗЛ. На кінцевих етапах ІТ було встановлено незначне збільшення рівня цих показників на 9,2 % по

відношенню до початкових значень. Слід зазначити, що рівень експресії CD83⁺ був достовірно нижче значень ПЗЛ ($p < 0,05$) на етапах проведення ІТ, однак на кінцевому етапі спостерігалась тенденція його збільшення (див. рис.).

Молекула CD11c відноситься до сімейства молекул міжклітинної адгезії. Саме вони характеризують здатність ДК до міграції у регіональні лімфатичні вузли, де в подальшому відбувається зустріч з наївними Т-лімфоцитами. Наші дослідження показали, що рівень експресії молекул CD11c⁺ на генерованих ДК хворих знаходиться в межах значень ПЗЛ, і дещо знижується на кінцевих етапах ІТ (див. рис.).

Відомо, що на відміну від інших антигенпрезентуючих клітин ДК мають декілька додаткових механізмів, які дозволяють їм представляти екзогенні антигени в комплексі з молекулами МНС не тільки II класу, але і МНС I класу, що є ключовим моментом для генерації ЦТЛ, здатних до інактивації пухлинних клітин. Це так звана перехресна презентація антигенів, коли антигени, що зазвичай презентуються молекулами МНС II класу, можуть бути представлені також і молекулами I класу [22,23].

Наші дослідження показали, що відносна кількість молекул HLA-ABC (молекули головного комплексу гістосумісності МНС I типу) на генерованих ДК хворих дещо зростала під час проведення ІТ, (див. рис.). Так показники на початкових етапах становили $88,43 \pm 3,34$ % проти $92,99 \pm 0,79$ % після проведення ІТ. Також слід зазначити, що рівень експресії молекул HLA-ABC на ДК генерованих з моноцитів хворих був дещо менше ніж показники у ПЗЛ, це може свідчити про пригнічення антигенпрезентуючих властивостей ДК у хворих на ТНРГЗ. Також ми не спостерігали значних змін у рівні експресії молекул HLA-ABC, що визначався за допомогою вимірювання середньої інтенсивності флюоресценції (Mean). Саме цей показник свідчить про збільшення щільності молекул HLA-ABC на мембрані ДК, що опосередковано вказує на активізацію перехресної презентації пухлинних антигенів.

Висновки. Результати нашого дослідження показали, що ДК, генеровані з моноцитів периферичної крові хворих ТНРГЗ, мають дещо знижені кількісні та функціональні показники зрілості по відношенню до показників ПЗЛ. Застосування пухлинних антигенів отриманих із пухлинної клітинної лінії MDA-MB-231 для навантаження ДК хворих дає можливість отримати клітини достатнього ступеня зрілості, що підтверджені дослідженнями фенотипових характеристик ДК. З кожним наступним етапом проведення ІТ зрілість ДК збільшується, тож для досягнення найбільш значного клінічного ефекту ІТ доцільне проведення не менше 4-5 введень клітин. У нашому дослідженні

були розроблені методичні підходи отримання кон-структу «ДК-пухлинний антиген», в якості природ-нього ад'юванту у складі протипухлинних вакцин в комплексному лікуванні хворих на ТНРГЗ.

Перспективи подальших досліджень. Вивчення біологічних характеристик генерованих ДК хворих

на ТНРГЗ обґрунтовує доцільність їх використання в якості природних ад'ювантів в складі протипухлин-них вакцин. Додаткове включення ІТ на основі ДК до стандартних схем лікування дозволить удосконалити і розробити найбільш ефективні протоколи лікуван-ня хворих ТНРЗ.

Література

1. Anders CK, Abramson V, Tan T, Dent R. The Evolution of Triple-Negative Breast Cancer: From Biology to Novel Therapeutics. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2016;35:34-42.
2. Claire H, Karandza V, Aktan G. Current treatment landscape for patients with locally recurrent inoperable or metastatic triple negative breast cancer: a systematic literature review. *Breast cancer research*. 2019;21:143-57.
3. Bianchini G, Balko JM, Mayer IA, Sanders ME, Gianni L. Triple negative breast cancer: challenges and opportunities of a heterogeneous disease. *Nat. Rev. Clin. Oncol*. 2016;13:674-90.
4. Dana A, Franzese E, Centonze S, Carlino F, Della Corte CM, Ventriglia J, et al. Triple-negative breast cancers: systematic review of the literature on molecular and clinical features with a focus on treatment with innovative drugs. *Curr. Oncol. Rep*. 2018;20(10):76.
5. Lu Z, Qiu Y, Lu W, Jiang Y, Wang G. Immunotherapeutic interventions of Triple Negative Breast Cancer. *J Transl Med*. 2018;16:147.
6. Banerji S, Cibulskis K, Rangel C, Brown KK, Carter SL, Frederick AM, et al. Sequence analysis of mutations and translocations across breast cancer subtypes. *Nature*. 2012;486:405-9.
7. Wang ZX, Cao JX, Wang M, Li D, Cui YX, Zhang XY, et al. Adoptive cellular immunotherapy for the treatment of patients with breast cancer: a meta-analysis. *Cytotherapy*. 2014;16:934-45.
8. Melero I, Gaudernack G, Gerritsen W, Huber C, Parmiani G, Scholl S, et al. Therapeutic vaccines for cancer: an overview of clinical trials. *Nat. Rev. Clin. Oncol*. 2014;11:509-24.
9. Jung N-C, Lee J-H, Chung K-H, Kwak YS, Lim DS. Dendritic cell-based immunotherapy for solid tumor. *Translational Oncology*. 2018;11:686-90.
10. Saxena M, Bhardwaj N. Re-emergence of Dendritic Cell Vaccines for Cancer Treatment. *Trends Cancer*. 2018;4(2):119-37.
11. Gardner A, Ruffell B. Dendritic cells and cancer immunity. *Trends Immunol*. 2016;37(12):855-65.
12. Rojas-Sepúlveda D, Tittarelli A, Gleisner MA, Ávalos I, Pereda C, Gallegos I, et al. Tumor lysate-based vaccines: on the road to immuno-therapy for gallbladder cancer. *Cancer Immunol Immunother*. 2018;67(12):1897-910.
13. Flores I, Hevia D, Tittarelli A, Soto D, Rojas-Sepúlveda D, Pereda C, et al. Dendritic cells loaded with heat shock-conditioned ovarian epi-thelial carcinoma cell lysates elicit T cell-dependent antitumor immune responses in vitro. *J Immunol Res*. 2019;2019:9631515.
14. Brown M-J, Bahsou S, Morris MA, Akam EC. Determining conditions for successful culture of multi-cellular 3D tumour spheroids to inves-tigate the effect of mesenchymal stem cells on breast cancer cell invasiveness. *Bioengineering*. 2019;6:101.
15. Khranovska N, Skachkova O, Sovenko V, Sydor P, Inomistova M, Melnyk V. Phenotypic and functional properties of generated dendritic cells in lung cancer patients. *Cell and Organ Transplantation*. 2016;4(2):162-6.
16. Farkas AM, Marvel D, Finn OJ. Antigen choice determines vaccine-induced generation of immunogenic versus tolerogenic dendritic cells that are marked by differential expression of pancreatic enzymes. *J Immunol*. 2013;190:19-27.
17. Gustafsson K, Junevik K, Werlenius O, Holmgren S, Karlsson-Parra A, Andersson P. Tumour-loaded α -type 1-polarized dendritic cells from patients with chronic lymphocytic leukaemia produce a superior NK-, NKT- and CD8+ T cell-attracting chemokine profile. *Scand J Immunol*. 2011;74:18-26.
18. Park J, Gerber MH, Babensee JE. Phenotype and polarization of autologous t cells by biomaterial-treated dendritic cells. *J Biomed Mater Res A*. 2015;103(1):170-84.
19. Kalinski P, Urban J, Narang R, Berk E, Wieckowski E, Muthuswamy R. Dendritic cell-based therapeutic cancer vaccines: what we have and what we need. *Future Oncology*. 2009;5(3):379-90.
20. Dudek A, Marti S, Garg A, Agostinis P. Immature, semi-mature, and fully mature dendritic cells: toward a DC-cancer cells interface that augments anticancer immunity. *Frontiers In Immunology*. 2013;4:40-53.
21. Richter C, Thieme S, Bandola J. Generation of inducible immortalized dendritic cells with proper immune function in vitro and in vivo. *PLoS One*. 2013;8(4):62621.
22. Joffre OP, Segura E, Savina A, Amigorena S. Cross-presentation by dendritic cells. *Nat Rev Immunol*. 2012;12:557-69.
23. Roche PA, Furuta K. The ins and outs of MHC class II-mediated antigen processing and presentation. *Nature Reviews Immunology*. 2015;34:1-14.

ФЕНОТИПОВІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ДЕНДРИТНИХ КЛІТИН ГЕНЕРОВАНИХ З МОНОЦИТІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ХВОРИХ НА ТРИЧІ НЕГАТИВНИЙ РАК ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ

Лялькін С. А., Скачкова О. В., Горбач О. І., Храновська Н. М., Сивак Л. А., Верьовкіна Н. О.

Резюме. Тричі негативний рак грудної залози (ТНРГЗ) вирізняється агресивним перебігом, раннім метаста-зуванням і як наслідок, коротшою тривалістю життя хворих. Метою дослідження було дослідити кількісні та фенотипові характеристики дендритних клітин (ДК) моноцитарного походження, що застосовувалися в якості клітинної основи при проведенні протипухлинної імунотерапії (ІТ) хворих на ТНРГЗ. Результати дослідження показали, що генеровані ДК хворих на ТНРГЗ, мають дещо знижені кількісні та функціональні показники зрілості по відношенню до показників практично здорових людей. Застосування пухлинних антигенів отри-маних з пухлинної клітинної лінії MDA-MB-231 для навантаження ДК хворих дає можливість отримати клітини достатнього ступеня зрілості, що підтвержені дослідженням їх фенотипових характеристик ДК. З кожним наступним етапом проведення ІТ їх зрілість збільшується, тож для досягнення найбільш значного клінічного ефекту ІТ доцільне проведення не менше 4-5 введень ДК.

Ключові слова: тричі негативний рак грудної залози, імунотерапія, дендритні клітини, пухлинна лінія MDA-MB-231.

ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК ГЕНЕРИРОВАННЫХ ИЗ МОНОЦИТОВ ПЕРИ-ФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ ТРИЖДЫ НЕГАТИВНЫМ РАКОМ ГРУДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Лялькин С. А., Скачкова О. В., Горбач А. И., Храновская Н. Н., Сивак Л. А., Веревкина Н. О.

Резюме. Трижды негативный рак грудной железы (ТНРГЗ) отличается агрессивным течением заболева-ния, ранним метастазированием и как следствие, короткой продолжительностью жизни больных. Целью

исследования было изучить количественные и фенотипические характеристики дендритных клеток (ДК) моноцитарного происхождения, используемые в качестве клеточной основы при проведении противоопухолевой иммунотерапии (ИТ) больных ТНПГЗ. Результаты нашего исследования показали, что генерируемые ДК больных ТНПГЗ имеют несколько сниженные количественные и функциональные показатели зрелости по отношению к показателям практически здоровых людей. Использование опухолевых антигенов, полученных из опухолевой клеточной линии MDA-MB-231, для нагрузки ДК больных дает возможность получить клетки достаточной степени зрелости, что подтверждено исследованием фенотипических характеристик ДК. С каждым последующим этапом проведения ИТ зрелость ДК увеличивается. Для достижения наиболее значимого клинического эффекта ИТ целесообразным является не менее 4-5 введений ДК.

Ключевые слова: трижды негативный рак молочной железы, иммунотерапия, дендритные клетки, опухолевая линия MDA-MB-231.

PHENOTYPIC CHARACTERISTIC OF THE DENDRITIC CELLS GENERATED FROM PERIPHERAL BLOOD MONOCYTES IN PATIENTS WITH TRIPLE-NEGATIVE BREAST CANCER

Lyalkin S. A., Skachkova O. V., Gorbach O. I., Khranovska N. M., Syvak L. A., Vervovkina N. O.

Abstract. Triple-negative breast cancer (TNBC) is considered an aggressive cancer with the occurrence of early metastases and short follow-up period. TNBC was detected in 10-15% of breast cancer cases. The developing of the new treatment approaches for patients with TNBC is very important now. Immunotherapy (IT) is one of the perspective treatments in advanced TNBC, which is based on the activation and enhancement of the specific immune response to the tumor. Recent anti-tumor IT includes specific monoclonal antibodies (for example, checkpoint inhibitors) and adaptive cellular immunotherapy, which includes antitumor vaccines.

The potential interest of anti-tumor IT is presented the natural origin adjuvants, such as dendritic cells (DC) – the main antigen-presenting cells of the immune system.

The aim of the study was to investigate the quantitative and phenotypic characteristics of dendritic cells (DCs) derived from mononuclear peripheral blood cells, which may be used for antitumor therapy in TNBC patients.

Object and methods. IT based on DC was administered as adjuvant treatment for patients with advanced TNBC after the basic treatment. DC was generated from peripheral blood monocytes and loaded with lysate of MDA-MB-231 cells. The phenotypic analysis of the autologous generated DC and populations of peripheral blood lymphocytes was performed by flow cytometry. DCs generated from TNBC patients had slightly reduced quantitative and functional properties of maturity cells compared to cells from almost healthy people. Tumor antigens derived from MDA-MB-231 cell line can lead sufficient maturity of DCs, these data were confirmed by DCs phenotypic characteristics. The DC phenotype was analyzed by flow cytometry using monoclonal antibodies to CD83, CD86, HLA-ABC antigens labeled with FITC and antibodies to CD 11c, HLA-DR antigens labeled with PE (BectonCoulter, USA). DC phenotype was assessed at the initial (1-3 introduction of DC vaccine) and final stages (4-5 injections of DC vaccine) of IT in patients with TNBC. The phenotype analysis was performed on a FACSCalibur flow cytometer (Becton Dickinson, USA) using Cell Quest-PRO software (Becton Dickinson, USA).

Results. DCs generated from peripheral blood monocytes of TNBC patients had the slightly reduced quantitative and functional parameters of maturity compared to cells in healthy people. So, the amount of CD86+HLA-DR + cells reached $77.64 \pm 3.11\%$ and CD83+ cells – $28.60 \pm 2.79\%$ before DC vaccine treatment and they are quite suitable for IT. Tumor antigens derived from the tumor cell line MDA-MB-231 contributed it possible to obtain sufficient mature DC with CD86 and HLA-DR high expression. The HLA-ABC expression was increased during DC vaccine immunotherapy confirming the enhancement of antigen cross-presentation. The number of HLA-ABC+ cells before IT reached $88.43 \pm 3.34\%$ compared to $92.99 \pm 0.79\%$ after IT. The maturity of DCs was increased after each subsequent stage of immunotherapy, so to achieve the most significant clinical effect of immunotherapy DC-vaccine must be administered at least 4-5 times. In our study, we developed methodological approach to obtaining the construct «DC-tumor antigen» as a natural adjuvant of antitumor vaccine for the treatment of advanced TNBC patients.

Key words: triple-negative breast cancer, immunotherapy, dendritic cells and MDA-MB-231 cells.

Рецензент – проф. Старченко І. І.

Стаття надійшла 04.05.2020 року

DOI 10.29254/2077-4214-2020-2-156-128-132

УДК 616.36-0,02:599.323.4

Маслова Г. С.

РОЛЬ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ У ФОРМУВАННІ ДОКСОРУБІЦИН-ІНДУКОВАНИХ УРАЖЕНЬ ПЕЧІНКИ У ЩУРІВ ІЗ НЕАЛКОГОЛЬНИМ СТЕАТОГЕПАТИТОМ

Українська медична стоматологічна академія (м. Полтава)

maslovaas1708@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Стаття є фрагментом НДР кафедри внутрішньої медицини № 1 Української медичної стоматологічної академії «Розробка методів профілактики та лікування медикаментозно-індукованих

уражень внутрішніх органів». № державної реєстрації теми 0115U001087.

Вступ. Важливим фактором протипухлинної дії антрациклінових антибіотиків, є потенціювання оксидативного стресу [1-4]. Доксорубіцин у всіх відсіках клітини включається у редокс-цикл, де підлягає