

**Исследование токсичности и местно-раздражающего действия
биомедицинского клеточного продукта «Анти-HER2-CAR-T-NK клетки» при
многократном введении**

Научный руководитель – Дьяченко Игорь Александрович

Горячева Наталья Александровна

Аспирант

Пушкинский государственный естественно-научный институт, Московская область, Россия

E-mail: natasha.goryacheva2017@yandex.ru

Главным достижением современной терапии рака, является иммунотерапия. Повышению значимости иммунотерапии способствовала разработка клеточной терапии аутологичными опухолеспецифичными Т-лимфоцитами - CAR-клетками, экспрессирующими химерные антигенные рецепторы (chimeric antigen receptor) [1]. Альтернативным вариантом может быть использование NK-клеток, которые, также играют ключевую роль в иммунном повреждении раковых клеток [17].

Целью данного исследования являлось изучение возможных токсических эффектов биомедицинского клеточного продукта (БМКП) «анти-HER2-CAR-T-NK клетки» при его курсовом внутрибрюшинном введении самцам и самкам мышей с неизменным иммунным статусом.

Материалы и методы. В исследовании было использовано 120 мышей аутбредного стока ICR. Животных рандомизировали на группы (см.рис.1).

Тестируемый препарат и носитель вводили внутрибрюшинно курсом из трех введений, чередуемых с введением иммуномодулятора (ронколейкином). Препарат вводили в 2-х дозах. Меньшая доза являлась терапевтической, большая доза в 5 раз превышала терапевтическую. Животные из дополнительной группы были предназначены для сбора образцов крови на иммунные маркеры.

В ходе исследования у животных регистрировали вес тела, потребление корма и проявление клинических признаков токсичности. На 7-й и 20-й дни исследования были проведены функциональные тесты для оценки состояния ЦНС, дыхательной и сердечно-сосудистой систем. На 8-й день исследования часть мышей была подвергнута эвтаназии и некропсии с забором органов для последующего гистологического анализа. Остальные животные подвергнуты некропсии после 14-дневного периода отмены введения. При некропсии регистрировали массу внутренних органов, и были взяты образцы крови для изучения параметров биохимии и гематологии, а также проведен анализ мочи и регистрация диуреза.

Статистический анализ проводили с использованием программного пакета Statistica 7.1. Различия определяли при 5%-ном уровне значимости ($p < 0,05$).

Результаты. В течении периода введения выраженных токсикологических клинических признаков выявлено не было. Введение тестируемого препарата не повлияло на потребление корма животными, показатели биохимии и гемограммы, параметры локомоторной активности, сердечно-сосудистой и дыхательных систем, показатели диуреза. Статистически значимых межгрупповых различий по данным параметрам выявлено не было. При анализе мочи в группе, получавшей тестируемый препарат в меньшей дозе, а также при макроскопическом и микроскопическом исследовании органов были выявлены небольшие отклонения, однако они не были связаны с токсикологическим проявлением тестируемого препарата.

Вывод. БМКП «анти-HER2-CAR-T-NK клетки» при его курсовом внутривенном введении самцам и самкам мышей ICR в дозе, эквивалентной терапевтической для человека, является безопасным.

Источники и литература

- 1) S. Tahmasebi, R.Elahi, E. Khosh, et al., Clin Transl Oncol. 22(9), 1003-1019 (2020).
- 2) M.A. Geller and J.S. Miller, Immunotherapy, 3(12), 1445-59 (2011).

Иллюстрации

Основная группа животных							
№ подгруппы	Вещество	Количество животных (номера)				Объем (мл/животное)	Доза (клеток/животное)
		Эвтаназия на 8 день		Эвтаназия на 22 день (спустя 14 дней восстановления/отмены)			
		Самцы	Самки	Самцы	Самки		
1	Носитель	6	6	6	6	0,25	-
2	Анти-HER2-CAR-T-NK	6	6	6	6		10^6
3		6	6	6	6		$5 \cdot 10^6$
4	Ронколейкин (ИЛ-2)	6	6	6	6		300 МЕ/животное
Дополнительная группа животных (иммунные маркеры)							
№ подгруппы	Вещество	Количество животных (номера)				Объем (мл/животное)	Доза (клеток/животное)
		Сбор крови на 7 день		Сбор крови на 21 день			
		Самцы	Самки	Самцы	Самки		
1	Носитель	-	3	-	3	0,25	-
2	Анти-HER2-CAR-T-NK	-	3	-	3		10^6
3		-	3	-	3		$5 \cdot 10^6$
4	Ронколейкин (ИЛ-2)	-	3	-	3		300 МЕ/животное

Рис. 1. Группы животных и используемые дозы