

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.М.СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА  
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
(СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

*На правах рукописи*

Воронова Вероника Михайловна

**Разработка рациональной комбинированной иммунотерапии с применением  
PD-1/PD-L1 моноклональных антител методами математического  
моделирования**

14.03.06 - Фармакология, клиническая фармакология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата фармацевтических наук

**Научный руководитель:**

доктор биологических наук, доцент

Лебедева Светлана Анатольевна

**Научный консультант:**

доктор медицинских наук, профессор

Секачева Марина Игоревна

Москва - 2021

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. ИММУНОТЕРАПИЯ В ОНКОЛОГИИ: ДОСТИЖЕНИЯ, ПЕРСПЕКТИВЫ, ПРОБЛЕМЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	12
1.1 Иммуноterapia онкологических заболеваний.....	12
1.1.1. Биология противоопухолевого иммунного ответа.....	12
1.1.2 Фармакологическая коррекция противоопухолевого иммунного ответа.	18
1.1.3 Комбинированная радиоиммуноterapia как перспективное направление лечения онкологических заболеваний .....	23
1.2. Математическое моделирование как инструмент оптимизации в иммунотерапии онкологических заболеваний.....	28
1.2.1. Общие подходы к моделированию в задачах онкологии .....	28
1.2.2. Применение моделирования для оптимизации радиотерапии.....	33
1.2.3. Применение моделирования для оптимизации иммунотерапии .....	35
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	41
2.1. Материалы исследования .....	41
2.1.1. Экспериментальные животные.....	41
2.1.2. Моноклональные антитела к PD-1 и PD-L1 .....	41
2.1.3. Радиолечение .....	42
2.2. Методы исследования.....	42
2.2.1. Оценка противоопухолевой активности моно- и радиоиммунотерапии .....	42
2.2.2. Статистическая обработка экспериментальных данных .....	42
2.2.3. Разработка математической модели.....	43

противоопухолевого иммунного ответа .....	43
2.2.3.1. Описание общей структуры уравнений модели .....	44
2.2.3.2. Верификация модели.....	45
2.2.3.3. Оценка качества модели .....	46
2.2.3.4. Валидация модели .....	47
2.2.4. Проведение метаанализа клинических исследований .....	48
2.2.4.1. Систематический поиск и сбор информации .....	48
2.2.4.2. Критерии отбора исследований.....	49
2.2.4.3. Расчет обобщенной оценки величины эффекта .....	51
2.2.5. Программное обеспечение .....	52
ГЛАВА 3. ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ PD-1/PD-L1 АНТИТЕЛ НА ФОНЕ РАДИОЛЕЧЕНИЯ.....	54
3.1. Изучение влияния временного интервала между .....	55
радио- и иммунотерапией на эффективность лечения.....	55
3.2. Изучение влияния режима радиотерапии на противоопухолевую .....	58
активность PD-1/PD-L1 антител .....	58
3.3. Результаты оценки противоопухолевой активности радиоиммунотерапии при иммунодефицитных состояниях.....	61
ГЛАВА 4. ОПИСАНИЕ РАЗРАБОТАННОЙ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ИММУННОГО ОТВЕТА .....	65
4.1. Финальная структура модели.....	65
4.1.1. Описание динамики роста опухоли .....	67
4.1.2. Описание эффектов иммунотерапии .....	67
4.1.3. Описание фармакокинетического профиля анти-PD-L1 антитела.....	71

и его связывания с мишенью .....	71
4.1.4. Описание эффектов радиотерапии.....	71
4.2. Результаты верификации модели .....	72
4.2.1. Определение параметров на основании литературных данных.....	72
4.2.2. Верификация параметров модели на основании .....	75
экспериментальных данных.....	75
4.3. Результаты оценки качества финальной модели .....	78
4.4. Валидация модели.....	80
<b>ГЛАВА 5. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОДЕЛИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ</b>	
<b>ЭФФЕКТОВ И ОПТИМИЗАЦИИ КОМБИНИРОВАННОЙ РАДИО- И</b>	
<b>ИММУНОТЕРАПИИ.....</b>	<b>82</b>
5.1. Влияние приема PD-1/PD-L1 антител и радиолечения на компоненты	
противоопухолевого иммунитета.....	82
5.2. Изучение механизмов межиндивидуальной вариабельности .....	85
в ответе на терапию.....	85
5.3 Оптимизация комбинированной радиоиммунотерапии посредством проведения	
виртуальных доклинических исследований.....	88
<b>ГЛАВА 6. МЕТААНАЛИЗ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ</b>	
<b>ЭФФЕКТИВНОСТИ РАДИОИММУНОТЕРАПИИ.....</b>	<b>92</b>
6.1. Выбор исследований для метаанализа .....	92
6.2. Сравнение эффективности и безопасности монорadiолечения и	
комбинированной радиоиммунотерапии: анализ отношения рисков .....	96
6.3 Изучение факторов, влияющих на одногодичную ОВ: анализ исходов лечения..	99
6.4. Анализ одногодичного локального контроля облучаемого опухолевого очага.	104

6.5. Изучение факторов, влияющих на частоту радионекроза: анализ исходов лечения .....	105
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	110
ВЫВОДЫ.....	118
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	120
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	124
ПРИЛОЖЕНИЕ А. Воспроизведение индивидуальной динамики роста опухоли в финальной модели.....	153
ПРИЛОЖЕНИЕ Б. Характеристика включенных в метаанализ исследований.....	157
ПРИЛОЖЕНИЕ В. Воронкообразные диаграммы рассеяния метарегрессионных моделей.....	159

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы исследования.** В настоящее время иммунотерапия является одним из перспективных направлений лечения онкологических заболеваний, предполагающим воздействие на опухоль посредством мобилизации иммунной системы. Ключевым преимуществом рассматриваемого подхода является возможность достижения стойкой ремиссии у пациентов с множественными метастатическими поражениями [1]. Для увеличения эффективности иммуностимулирующих препаратов активно используются стратегии комбинирования и персонализации терапии, предполагающие рациональный выбор комбинируемых препаратов и режима дозирования с учетом индивидуальных особенностей пациента.

Одним из примеров комбинированного подхода является назначение ингибиторов контрольных точек иммунитета (ИКТИ) на фоне лучевой терапии. В настоящее время эффективность данной комбинации активно изучается в экспериментах с использованием сингенных мышинных опухолевых моделей [2; 3]. Стоит отметить, что дизайн опубликованных доклинических исследований включает ограниченное число групп животных, что является оправданным с этической точки зрения и позволяет минимизировать затраты, однако значительно затрудняет сравнительный анализ эффективности различных терапевтических режимов.

Одним из инструментов решения данной проблемы является математическое моделирование, предполагающее описание рассматриваемого биологического объекта в виде системы обыкновенных дифференциальных уравнений (ОДУ). Преимуществом данного подхода является возможность количественной оценки влияния препаратов на патогенез заболевания, а также изучение взаимосвязи между его компонентами, динамикой измеряемых биомаркеров и/или исходами лечения, что обуславливает актуальность проведения настоящих исследований с использованием методов математического моделирования для разработки рациональной

комбинированной радио- и иммунотерапии с использованием препаратов группы ИКТИ – PD-1/PD-L1-специфичных антител на примере колоректальной аденокарциномы у мышей.

**Степень разработанности проблемы.** Анализ научной литературы, посвященной вопросам фармакотерапии онкологических заболеваний, показал, что результаты доклинических исследований эффективности комбинированной радио- и иммунотерапии представлены, в основном, зарубежными источниками [4–6]. Опубликованные ретроспективные клинические наблюдения свидетельствуют об эффективности иммунотерапии на фоне радиолечения у пациентов с различными онкологическими заболеваниями [7]. В то же время вопрос подбора режима фармакотерапии онкологических заболеваний с использованием методов математического моделирования в нашей стране изучен недостаточно.

Цель исследования – оптимизация комбинированной фармакотерапии с применением ионизирующего облучения и PD-1/PD-L1-специфичных моноклональных антител на примере колоректальной мышинной модели аденокарциномы СТ26 методами математического моделирования.

#### **Задачи исследования**

1. Провести оценку противоопухолевой эффективности различных режимов ионизирующего излучения, PD-1/PD-L1-специфичных моноклональных антител, а также их комбинаций у мышей с колоректальной аденокарциномой СТ26.
2. На основе результатов проведенных доклинических исследований построить математическую модель противоопухолевого иммунного ответа.
3. Определить оптимальный режим комбинированной радио- и иммунотерапии, используя построенную математическую модель.
4. Провести расчет динамических изменений компонентов противоопухолевого иммунного ответа на фоне ионизирующего излучения, PD-1/PD-L1-специфичных моноклональных антител, а также их комбинаций.

5. Осуществить поиск биомаркеров, позволяющих оценить вероятность противоопухолевого ответа при применении комбинированной терапии с использованием ионизирующего облучения и PD-1/PD-L1-специфичных моноклональных антител.

6. Провести метаанализ ретроспективных клинических исследований по применению ИКТИ на фоне лучевой терапии олигометастатических поражений головного мозга и сравнить полученные результаты с расчетами математической модели, разработанной на основе данных доклинических экспериментов.

### **Научная новизна исследования**

Впервые проведено сравнительное исследование эффективности различных режимов облучения и времени назначения PD-1/PD-L1-специфичных моноклональных антител на модели колоректальной мышинной аденокарциномы СТ26. Предложена математическая модель, позволяющая проводить интеграцию экспериментальных данных для количественной оценки биологических эффектов комбинированной радио- и иммунотерапии на ключевые компоненты противоопухолевого иммунного ответа. Впервые количественно охарактеризована взаимосвязь между индивидуальными особенностями иммунной системы и наблюдаемой межиндивидуальной вариабельностью в эффективности лечения для оптимизации биомаркерной стратегии. Проведен регрессионный метаанализ по количественному изучению влияния различных факторов на показатели клинической эффективности и безопасности комбинированной радио- и иммунотерапии у пациентов с олигометастатическими поражениями головного мозга.

### **Практическая значимость работы**

Изучена взаимосвязь между динамикой изменения ключевых компонентов иммунного ответа и наблюдаемой эффективностью лечения, охарактеризованы биологические механизмы синергии между ионизирующим облучением и PD-1/PD-L1-специфичными антителами.

Идентифицированы наиболее эффективные режимы комбинированной терапии, установлено оптимальное время назначения ИКТИ на фоне радиолечения. Выявлены предиктивные биомаркеры, которые могут быть использованы для оценки вероятности успеха рассматриваемой терапии в клинической практике. Разработанная математическая модель используется для оптимизации доклинических программ компании АстраЗенека.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Комбинированное лечение характеризуется более высокой эффективностью и сопоставимой безопасностью по сравнению с лучевой терапией.
2. Противоопухолевый эффект достигается за счет стабильного увеличения уровня опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов.
3. Наибольшая эффективность комбинированного лечения наблюдается при назначении PD-L1-специфичных антител одновременно с лучевой терапией при высокодозном режиме облучения.
4. Эффективность комбинированной фармакотерапии зависит от иммуногенности опухоли.

### **Степень достоверности результатов**

Необходимая степень достоверности представленных результатов обусловлена репрезентативностью выборки лабораторных животных. Экспериментальная часть проведена с использованием сертифицированного и современного оборудования с использованием высокотехнологичных методик. Полученные экспериментальные данные обработаны с использованием стандартных методов статистического анализа. Используемые научно-методические подходы отвечают поставленным задачам. Практические рекомендации и выводы соответствуют цели и задачам диссертационного исследования.

### **Апробация результатов исследования**

Результаты работы представлены на 26 и 27 ежегодных встречах «The Annual Meeting of the Population Approach Group in Europe» (2016, Лиссабон; 2017, Будапешт),

8 ежегодной конференции «American Conference of Pharmacometrics» (2017, Форт Лодердейл), ежегодной конференции «American Association for Cancer Research Annual Meeting» (2018, Чикаго), 33 и 34 ежегодных встречах «Society for Immunotherapy of Cancer Annual Meeting» (2018, 2019, Вашингтон), XXVI Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2019), ежегодной встрече «European Society for Radiotherapy and Oncology» (2020, Вена), межкафедральной научно-методической конференции Института фармации им. А.П. Нелюбина, научно-исследовательского отдела «Центр персонализированной онкологии» Института персонализированной медицины и научной группы «Компьютерная онкология» Сеченовского Университета, лаборатории оценки технологий в здравоохранении РАНХиГС, компании M&S Decisions, отдела методологического обеспечения проведения комплексной оценки технологий в здравоохранении, ФГБУ «ЦЭКМП» Минздрава России и ФГБУ ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России.

#### **Личный вклад автора**

Автор принимал непосредственное участие в планировании и проведении доклинических исследований, анализе и интерпретации экспериментальных наблюдений, разработке математической модели, написании алгоритмов расчета эффективности различных терапевтических режимов, подготовке материалов к публикации. Лично автором проведен сбор и анализ данных клинических исследований радио- и иммунотерапии. Автором подготовлен обзор литературы по теме исследования, сформулированы цели и задачи работы, сделаны научные выводы и практические рекомендации. Текст диссертации написан лично автором.

#### **Внедрение результатов исследования**

Основные положения диссертационного исследования нашли практическое применение в учебном процессе и научной деятельности кафедры фармакологии Института фармации им. А.П. Нелюбина Сеченовского Университета и практической деятельности ООО Эм энд Эс десижанс (Москва).

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 16 научных работ, в том числе 3 статьи в зарубежных журналах, индексируемых в SCOPUS и Web of Science, 1 статья в ведущем рецензируемом научном журнале, включенном в перечень изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для публикации результатов диссертаций.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 160 страницах, содержит 12 таблиц, 20 рисунков. Работа состоит из введения, 6 глав, обсуждения полученных результатов, выводов и практических рекомендаций. Библиографический список включает 28 отечественных и 176 зарубежных источников.

# **ГЛАВА 1. ИММУНОТЕРАПИЯ В ОНКОЛОГИИ: ДОСТИЖЕНИЯ, ПЕРСПЕКТИВЫ, ПРОБЛЕМЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

## **1.1 Иммуноterapia онкологических заболеваний**

### **1.1.1. Биология противоопухолевого иммунного ответа**

Концепция использования собственной иммунной системы пациента для терапии онкологических заболеваний была продолжена Уильямом Коли, который еще в 1891 году применял инъекции бактерий и продуктов бактериального метаболизма для лечения неоперабельных опухолей. Несмотря на положительные результаты его исследований, данный тип лечения не нашел одобрения и вскоре был вытеснен химио- и радиотерапевтическими подходами [8–10]. Дальнейшие исследования в области иммунологии, ставшие возможными благодаря развитию инструментальных методов молекулярной биологии, позволили получить более полное представление о работе иммунной системы и вернуться к рассмотрению возможности использования иммунотерапий в онкологии. Так, в середине XX века были охарактеризованы ключевые звенья иммунитета, активирующиеся в ответ на тот или иной тип патогенов, изучена роль различных клеточных популяций и цитокинов в активации и поддержании иммунного ответа [9]. В то же время начали появляться первые работы, рассматривающие взаимодействие иммунной системы человека и клеток опухоли. В 1971 году впервые была высказана гипотеза об иммуногенности опухолей, т.е. возможности их распознавания иммунной системой, получившая подтверждение в 80-х годах [11], в 2000-х годах был изучен феномен иммуногенной смерти – гибели опухолевых клеток, сопровождающейся высвобождением внутриклеточного содержимого и опухолевых антигенов во внеклеточное пространство и дополнительной активацией противоопухолевого иммунного ответа, а также охарактеризован феномен иммунного редактирования опухоли – естественного

отбора опухолевых клеток, устойчивых к действию иммунной системы [12; 13]. Переломным моментом иммуноонкологии можно назвать 90-е годы XX века, ознаменовавшиеся открытием контрольных точек иммунитета – ко-ингибиторных рецепторов на поверхности Т-лимфоцитов, ограничивающих эффективность противоопухолевого Т-клеточного иммунного ответа. В 1992 году в лаборатории Тасуку Хондзо был открыт белок программируемой клеточной смерти 1 (Programmed cell death-1, PD-1) [14], а в 1995 году в лаборатории Аллисона был охарактеризован цитотоксический Т-лимфоцит-связанный протеин 4 (Cytotoxic T lymphocyte associated protein-4, CTLA-4) [15], за что оба исследователя в 2018 году были удостоены Нобелевской премии. В дальнейшем были изучены и другие механизмы подавления иммунного ответа клетками опухоли и предложена классификация микроокружения опухолей (МОО) по следующим иммунофенотипам [16]:

1. Immune desert tumors – опухоли, слабо инфильтрированные иммунными клетками. В данном случае опухолевые клетки могут «скрываться» от иммунной системы путем подавления экспрессии белков главного комплекса гистосовместимости (МНС) на своей поверхности или не иметь в своем составе доступных для активации иммунного ответа антигенов, т.е. быть низкоиммуногенными [12].

2. Immune excluded tumors – опухоли, инфильтрированные иммунными клетками по периферии новообразования. Механизмом иммуносупрессии в данном случае является создание физических барьеров для проникновения иммунных клеток в опухоль, например, разрастание экстрацеллюлярного матрикса или создание специфического цитокинового окружения [16; 17].

3. Inflamed tumors – опухоли, инфильтрированные различными функционально-неполноценными и иммуносупрессивными популяциями иммунных клеток, например, регуляторными Т- и В-клетками (regulatory T cells, B cells, Treg, Breg), альтернативно-активированными макрофагами и гранулоцитарными и моноцитарными супрессорными клетками миелоидного происхождения (myeloid derived suppressor

cells, MDSC) [18]. Данные клетки нарушают дифференцировку других клеточных популяций, а также, обладая про-ангиогенными свойствами, способствуют васкуляризации и росту опухоли [18]. В инфильтрате «воспаленных» опухолей могут присутствовать Т-лимфоциты, однако инактивация данных клеток в условиях МОО сопровождается снижением их пролиферативного потенциала и/или цитотоксической активности [19].

Стоит отметить, что, как и любая специфическая иммунная реакция, противоопухолевый иммунный ответ является динамическим многостадийным процессом. Для более детального описания каждой из стадий в текущей работе была использована наиболее актуальная на данный момент концепция ИО цикла, предложенная доктором Дэниэлом Ченом и Ирой Мэллманом [20] (рисунок 1.1).

Накопление большого количества мутаций в генетическом аппарате опухолевых клеток сопровождается процессами злокачественной трансформации и появлению в их структуре опухолеассоциированных и опухолеспецифичных антигенов [21; 22]. Первым этапом противоопухолевого иммунного ответа является высвобождение опухолевых антигенов, происходящее в процессе иммуногенной гибели опухолевых клеток. Данный процесс сопровождается захватом антигенов антигенпрезентирующими клеткам (antigen presenting cells, APC) – дендритными клетками и макрофагами, и их презентации на поверхности APC (этап 2). При распознавании антигена, представленного на поверхности APC, антигенраспознающими рецепторами, находящимися на поверхности Т-лимфоцитов, происходит активация последних (этап 3) [23; 24] сопровождающаяся клональной селекцией антиген-специфичных Т-лимфоцитов, их активацией, пролиферацией, миграцией в сайт опухоли и дифференциацией в цитотоксические Т-лимфоциты (cytotoxic T-lymphocytes, CTL) (этапы 4, 5). Завершающим этапом является распознавание антигена на поверхности клеток опухоли CTL и их лизис. В результате гибели клеток опухоли происходит дополнительный выброс антигенов в окружающее пространство, что приводит к дальнейшему усилению иммунного ответа [20].

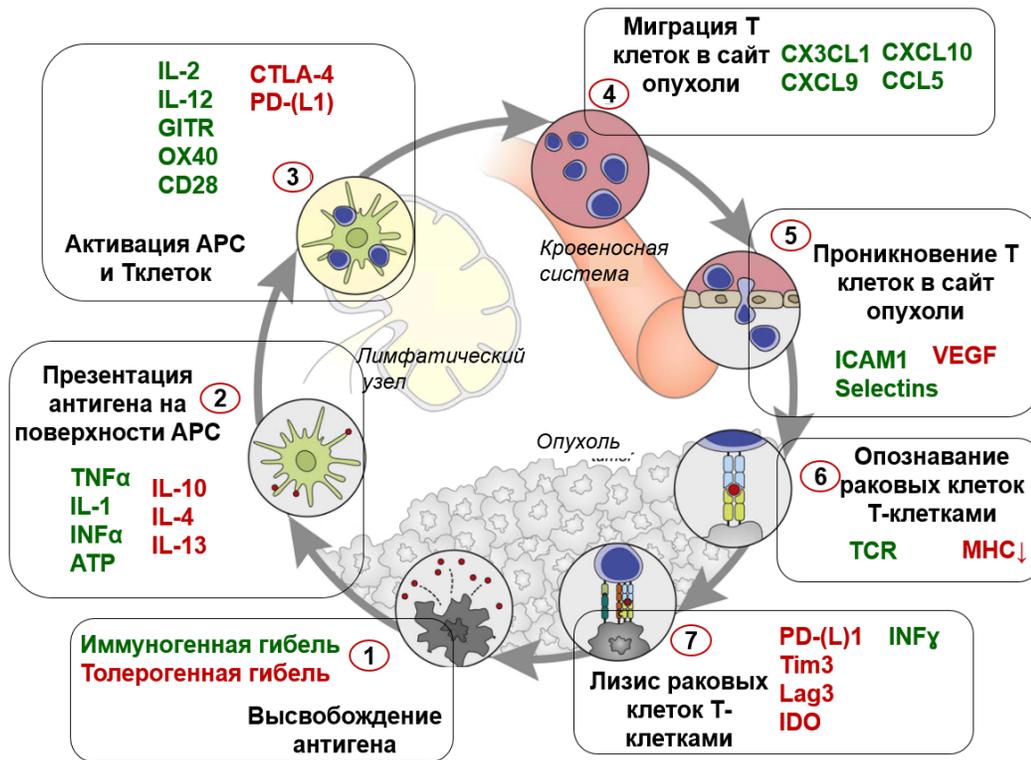


Рисунок 1.1 - ИО цикл. Изображение адаптировано из статьи [20]

На каждом из этапов ИО цикла эффективность иммунного ответа может регулироваться как положительными, так и отрицательными обратными связями. Так, еще на стадии антигенпрезентации происходят множественные ко-стимулирующие и ко-ингибирующие рецепторные взаимодействия между APC и лимфоцитами, определяющие выраженность Т-клеточного ответа [23]. Например, активация ко-стимулирующих рецепторов: индуцируемого костимулятора Т-лимфоцитов (inducible T cell co-stimulator, ICOS), OX40 и CD40 на поверхности Т-лимфоцитов сопровождается усилением их активности, а активация ко-ингибирующих рецепторов CTLA-4, PD-1 и гена активации лимфоцитов-3 (lymphocyte activation gene-3, LAG-3), напротив, приводит к снижению функциональной активности [23; 25; 26]. Путь дальнейшего развития противоопухолевого иммунного ответа определяется спецификой МОО. Регуляция МОО осуществляется посредством множественных

положительных обратных связей и антагонистических взаимодействий между иммуноактивными и иммуносупрессивными клеточными популяциями, реализуемых через цитокиновые каскады, рецепторные взаимодействия и различные сигнальные молекулы и метаболиты [27; 28; 18; 16; 29] (рисунок 1.2).

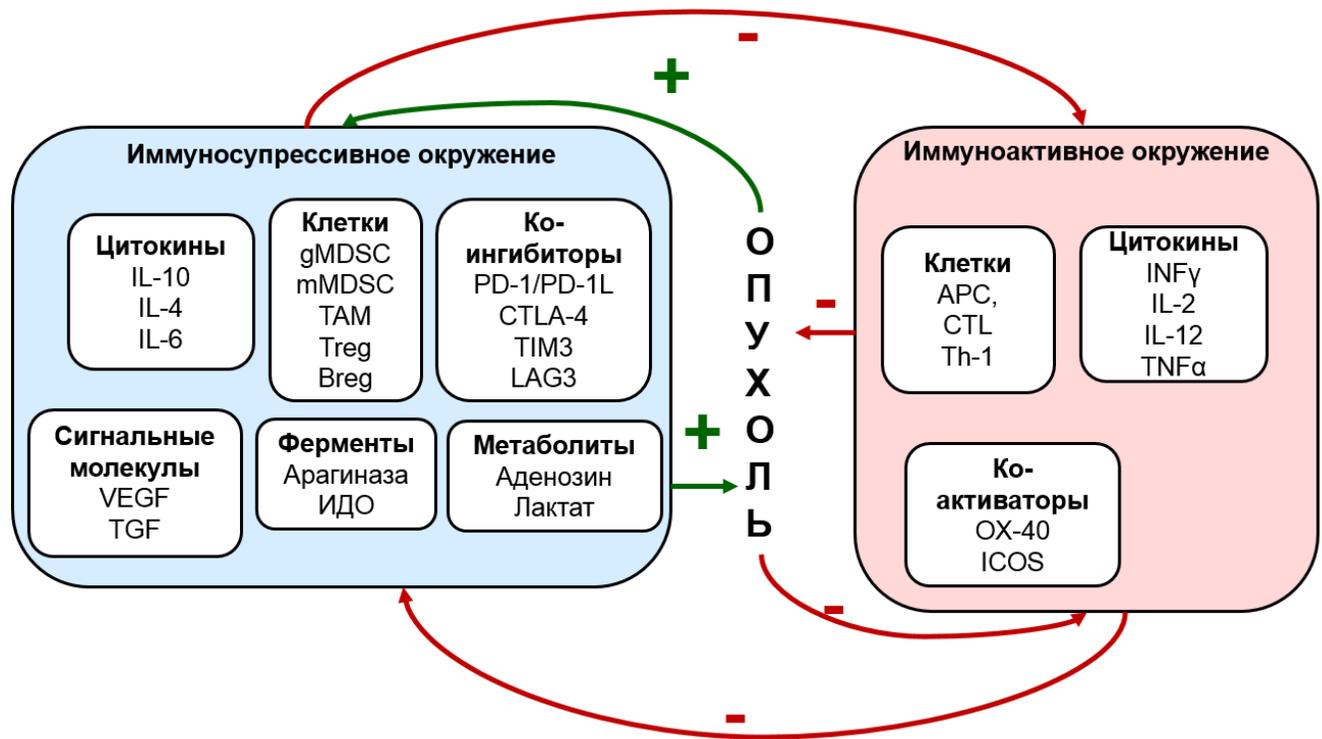


Рисунок 1.2 – Взаимосвязь между иммуносупрессивным и иммуноактивными компонентами микроокружения опухоли

К провоспалительным или иммуноактивирующим компонентам МОО можно отнести вышеупомянутые APC, которые не только осуществляют антигенпрезентацию, но и секретируют провоспалительные цитокины, например, интерлейин (interleukin, IL)-12, необходимый для дифференцировки наивных Т-хелперов (Thelpers-0, Th-0) в Т-хелперы первого типа (Thelpers-1, Th-1). В свою очередь, Th-1 вырабатывают лимфоцитарный ростовой фактор IL-2, необходимый для клональной экспансии опухоль-специфичных Т-лимфоцитов, а также продуцируют интерферон-гамма (interferon- $\gamma$ , INF- $\gamma$ ), вызывающий активацию макрофагов [18]. К другим провоспалительным компонентам можно отнести IL-1, фактор некроза

опухолей (tumor necrosis factor, TNF) и другие цитокины, необходимые для пролиферации, дифференциации или активации APC, CTL и Th1 [18].

Как было отмечено ранее, в МОО могут быть представлены многочисленные альтернативно-активированные и регуляторные популяции иммунных клеток, в нормальных условиях обеспечивающие разрешение воспалительных процессов. Одним из факторов, создающих иммуносупрессивное МОО, является наличие очагов гипоксии, сопровождающееся активацией анаэробного гликолиза и закислением среды, а позднее, и возникновением некротических участков [30; 31]. При этом в межклеточное вещество высвобождаются компоненты внутриклеточного содержимого, обладающие иммуносупрессивным потенциалом. Так, было показано, что в некоторых опухолях происходит накопление аденозина, который подавляет активность APC и CTL [32–34].

Альтернативно-активированные популяции иммунных клеток не способны принимать участие в развитии иммунного ответа, например, альтернативно-активированные дендритные клетки и макрофаги не могут представлять антиген на своей поверхности [31]. Помимо этого, иммуносупрессивные клетки выделяют цитокины, усиливающие собственную пролиферацию по механизму положительной обратной связи, и подавляющие пролиферацию активных иммунных клеток, таких как Th-1 [18; 35–38]. К таким противовоспалительным цитокинам можно отнести IL-10, IL-4 и IL-6, смещающие дифференцировку Th-0 в сторону T-хелперов второго типа (Thelpers-2, Th-2) и вызывающие альтернативную активацию макрофагов. Иммуносупрессивные клетки также способны вызывать деплецию необходимых для жизнедеятельности T-лимфоцитов питательных веществ посредством активации ферментов, расщепляющих данные соединения. Например, высокая экспрессия индоламин-2,3-диоксигеназы (ИДО) и аргиназы MDSC клетками сопровождается деплецией триптофана и аргинина, необходимых для жизнедеятельности T-хелперов [23; 31; 39]. Рецептор-опосредованное взаимодействие между различными клеточными популяциями также играет важную роль в подавлении активности CTL:

клетки иммунной системы и опухолевые клетки могут экспрессировать своей поверхности лиганды к ко-ингибиторным рецепторам CTL и при контакте с последними запускать механизмы снижения пролиферативной и цитотоксической активности CTL [23].

Помимо иммуносупрессивного действия, альтернативно-активированные клетки, например TAM, выделяют проангиогенные факторы, такие как, трансформирующий фактор роста бета и фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor, VEGF), которые ускоряют рост опухоли посредством ее васкуляризации и способствуют разрастанию экстрацеллюлярного матрикса, что создаёт барьеры для проникновения иммунных клеток в опухоль [18].

Обобщая все вышесказанное, можно сказать, что посредством множественных механизмов опухоли создают вокруг себя МОО, которое не только снижает эффективность иммунного ответа, но может активировать рост самой опухоли.

### **1.1.2 Фармакологическая коррекция противоопухолевого иммунного ответа**

Принимая во внимание комплексную картину МОО, существует огромный потенциал для разнообразных терапевтических воздействий, направленных как на активацию иммунной системы (вакцины, технологии адаптивной пересадки T-лимфоцитов, провоспалительные цитокины, ко-активирующие молекулы), так и на блокаду иммуносупрессивных компонентов (ингибиторы контрольных точек иммунитета или иммуносупрессивных цитокинов и метаболитов) [40]. Так, к 2017 году количество зарегистрированных иммунотерапий достигло 27; 940 новых препаратов находилось на этапе клинических испытаний, 1064 молекул – на стадии доклинических исследований [41]. Общее количество онкологических пациентов с различными нозологиями, вовлеченных в исследования, достигло 577 076 человек [41].

Первые стратегии иммунотерапевтического воздействия были направлены на активацию иммунной системы. Так, еще в 30-х годах вакцина БЦЖ была впервые испытана на онкологических пациентах, а в 1976 году Моралес разработал режим БЦЖ-вакцинации для терапии рака мочевого пузыря, который используется и по сей день [42]. На протяжении последних десятилетий XX века возможности использования вакцинотерапии в лечении онкологических заболеваний активно исследовались, создавались препараты, содержащие аутологичные и аллогенные инактивированные опухолевые клетки, пептидные вакцины, препараты на основе дендритных клеток [43; 44]. Последующее развитие омиксных технологий и методов системной биологии повлекло активные разработки противоопухолевых вакцин, содержащих конкретные антигенные детерминанты, экспрессируемые опухолевыми клетками, однако, на данный момент единственным одобренным управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug administration, FDA) препаратом данной группы является Sipuleucel-t, применяемый для лечения метастатического гормон-резистентного рака простаты, 98 препаратов проходят клинические исследования [41].

Адаптивный клеточный трансфер является альтернативной стратегией иммунизации пациентов. Первые опыты с аутологичной пересадкой Т-лимфоцитов, полученных из инфильтрата опухоли пациентов больных меланомой, с их последующей селекцией и наработкой *ex vivo*, были проведены еще в 1988 году [45]. Распространение генных технологий в 2000-х годах позволило получать генетически-модифицированные лимфоциты, содержащие химерные рецепторы антигена, состоящие из антигенраспознающего домена и участка активации (chimeric antigen receptor (CAR)-модифицированные Т-лимфоциты) или Т-клеточные рецепторы, специфичные к определенному антигену [45; 46].

Еще одной разновидностью иммуноактивирующих препаратов можно назвать би-специфичные антитела, один фрагмент которых обладает сродством к Т-лимфоцитам, а другой – к антигенам на поверхности опухоли [47]. Механизм действия

данных препаратов заключается в создании устойчивой связи между Т-лимфоцитами и клетками опухоли с последующим лизисом последних. Два препарата данной группы (катумаксумаб и блинатомумаб) одобрены FDA для лечения EpCam-положительного рака желудка и острого лимфобластного лейкоза соответственно [47].

Стимуляция иммунной системы пациента посредством иммуномодуляторов также может быть использована при лечении онкологических заболеваний [48]. Первым иммунотерапевтическим препаратом, одобренным FDA в 1986 году, является интерферон-альфа, применяемый для лечения волосатоклеточного лейкоза; в 1992 году было одобрено использование рекомбинантного IL-2 для лечения метастатического рака почки [49].

Одним из наиболее новых подходов активации иммунной системы стало использование агонистов ко-стимуляторных рецепторов на поверхности Т-лимфоцитов. На данный момент на начальных стадиях клинических исследований находятся десятки препаратов, направленных на активацию рецепторов 4-1BB, ICOS, протеин глюкокортикоид-индуцированного рецептора фактора некроза опухоли (glucocorticoid-induced TNFR-related protein, GITR), CD27-CD70, OX40 и CD40 [41; 50].

Стоит отметить, что несмотря на огромное количество протестированных подходов, лишь 20 препаратов одобрены FDA, включая 7 вакцин, 8 цитокинов, 2 клеточные терапии и 2 биспецифичных антитела [41]. Основными факторами, лимитирующими использование иммуноактивирующих агентов для лечения онкологических заболеваний, являются иммуноопосредованные побочные явления, вызванные неспецифичной активацией иммунитета, и недостаточная клиническая эффективность препаратов вследствие компенсаторной стимуляции различных иммуносупрессивных компонентов в ответ на лечение [12; 32].

Так, клиническое исследование первого препарата данного класса – суперагониста CD28 рецепторов терализумаба (TGN1412) закончилось в 2006 году госпитализацией пациентов из-за полиорганной недостаточности, возникшей

вследствие гиперактивации иммунной системы, сопровождающейся синдромом высвобождения цитокинов [51]. Основным фактором, ограничивающим применение клеточных технологий в онкологии, послужило большое количество иммуноопосредованных побочных эффектов и аутоиммунных реакций ввиду недостаточной селективности Т-лимфоцитов по отношению к клеткам опухоли [24]. Использование вакцин, в свою очередь, показало ограниченную эффективность, являющуюся следствием вышеописанного феномена иммунного редактирования опухоли, а также гетерогенности генетических нарушений клеток в разных опухолевых очагах [21].

Нарастающее скептическое отношение ученых к терапевтическому потенциалу иммунных препаратов в онкологии изменилось на фоне успешных результатов клинических исследований ИКТИ. Первый препарат данного класса – антитело к CTLA-4 рецепторам – ипилимумаб был одобрен FDA для лечения метастатической неоперабельной меланомы в 2011 году [52]. В группе у 18% пациентов, получающих препарат, была отмечена долговременная выживаемость более 5 лет, что вызвало широкий резонанс в научных кругах и спровоцировало многочисленные исследования ипилимумаба в различных нозологиях, а также повлекло за собой изучение терапевтического потенциала и других ИКТИ [23].

Следующими препаратами, получившими одобрение FDA для лечения метастатической неоперабельной меланомы в 2014 году и для лечения немелкоклеточного рака легкого (НМЛР) в 2015 году, стали антитела к рецептору PD-1 ниволумаб и пембролизумаб; в 2016 году атезолизумаб (PD-L1-специфичное моноклональное антитело) был зарегистрирован для терапии уротелиальной метастатической карциномы; в 2017 году для лечения уротелиальной карциномы получили одобрение FDA PD-L1-специфичные антитела авелюмаб и дурвалюмаб; PD-1-специфичное моноклональное антитело цемиплимаб, получившее одобрение FDA в 2018 году, является единственным зарегистрированным иммунотерапевтическим препаратом для лечения плоскоклеточного рака кожи [52].

На территории Российской Федерации на данный момент одобрено использование препаратов пембролизумаб, ниволумаб, ипилиумаб, атезолизумаб и авелумаб [53; 54], ведутся разработки отечественного препарата пролголимаб [55]. В то время, как PD-1, PD-L1, CTLA-4 остаются наиболее изученными мишенями ИКТИ, активно ведутся исследования и других контрольных точек иммунитета: V-доменный иммуноглобулиновый супрессор активации T-клеток (V-domain Ig suppressor of T cell activation, VISTA), T-клеточный иммуноглобулин и муциновый белок-3 (T-cell immunoglobulin and mucin domain-3, TIM-3), LAG-3, CD276, иммуноглобулиноподобный рецептор киллерных клеток-3 (killer immunoglobulin-like receptor-3, KIR-3) [32; 50].

Терапевтические стратегии, предполагающие деплецию иммуносупрессивных клеток в сайте опухоли, также активно тестируются в клинических и доклинических исследованиях. Данные подходы предполагают подавление миграции иммуносупрессивных клеток в сайт опухоли посредством блокады эффектов соответствующих хемокинов, снижение их функциональной активности или лизис данных клеточных популяций [29]. В качестве примера можно соответственно привести (1) CXCR2 ингибиторы, снижающие инфильтрацию опухоли MDSC, (2) бессмысловые олигонуклеотиды к транскрипционному фактору FoxP3 или препараты, влияющие на компоненты внутриклеточных сигнальных каскадов – ингибиторы сигнального белка и активатора транскрипции-3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) и фосфоинозитид-3-киназы  $\delta$  (phosphoinositide 3-kinase  $\delta$ , PI3K $\delta$ ), модулирующие активность Treg и (3) Treg-направленные антитела с дополнительной цитотоксичностью [29].

Помимо воздействия на различные клеточные популяции широко исследуются возможности ингибирования различных метаболитов и ферментов, обладающих иммуносупрессивными эффектами. Так, на данный момент, клинические исследования проходят препараты, блокирующие аденозин-опосредованную иммуносупрессию: блокаторы аденозиновых рецепторов типа 2A, антитела к

ферментам, участвующим в синтезе аденозина – CD39 и CD73 [32]; разрабатываются ингибиторы ферментов, вызывающих деплецию аминокислот – ИДО, триптофан диоксигеназы и арагиназы [29].

### **1.1.3 Комбинированная радиоиммунотерапия как перспективное направление лечения онкологических заболеваний**

В то время, как первые клинические исследования показали стойкую ремиссию заболевания у порядка 19–47% пациентов с НМРЛ, 11–61% – с меланомой и 25% – с раком почки под действием ИКТИ, большая часть пациентов не отвечала на терапию [56; 57]. Одним из путей преодоления данной проблемы является использование комбинированного подхода, предполагающего применение двух иммунотерапевтических препаратов, или совместный прием иммунотерапевтических препаратов с химио- и/или радиолечением или таргетными препаратами [2; 3; 6; 41]. Такой подход показал эффективность в многочисленных доклинических испытаниях, и на данный момент огромное количество терапий проходят клиническое тестирование. Так, количество клинических исследований комбинированного лечения с использованием PD-1/PD-L1 и CTLA-4 антител достигло на момент 2017 года 251, PD-1/PD-L1 антител и радио- и химиотерапий – 64 и 170 соответственно [41].

Биологическое обоснование комбинированной радио- и иммунотерапии основано на многочисленных экспериментальных доказательствах иммуноактивирующего влияния ионизирующего излучения [58–60]. Еще в 1979 году Стоун и соавторы заметили, что процент ответов на радиотерапию в группе иммунодефицитных мышей оказался значимо ниже по сравнению с группой иммунокомпетентных животных [61]. На тот момент данное наблюдение не вызвало резонанса в научных кругах, однако, последующее развитие иммуноонкологии привело к более детальному изучению механизмов иммуноактивирующего действия радиотерапии. Так, было показано, что на фоне радиотерапии происходит выброс

провоспалительных компонентов клеточного содержимого в межклеточное пространство, усиливаются процессы миграции APC в сайт опухоли, в то же время отмечается увеличение PD-1/PD-L1-экспрессии на поверхности клеток опухоли [62]. Данные наблюдения указывают на первичную активацию иммунной системы в ответ на радиотерапию, подавляемую иммуносупрессивными компонентами МОО; такой феномен получил название адаптивной иммунотолерантности [62; 63].

Еще одним интересным наблюдением можно назвать абскопальный эффект, называемый также «эффектом свидетеля», – уменьшение объема необлучаемых очагов опухоли под действием локального облучения таргетной опухоли, впервые описанный Молом в 1953 году [64]. Механизм, лежащий за данным наблюдением оставался неизученным на протяжении долгих лет, и только в 2004 году Сандра Демария в доклинических исследованиях с использованием иммунодефицитных мышей показала, что абскопальный эффект имеет иммунную природу [65].

Первые клинические исследования радио- и иммунотерапий проводились еще в 80-х годах XX века и предполагали использование комбинированной радиовакцинотерапии, однако такой подход не показал статистически значимого преимущества по сравнению со стандартами лечения в терапии меланомы, рака груди, колоректальной карциномы и НМЛР [66]. Напротив, в ряде более поздних исследований, включающих в качестве иммунных агентов ИКТИ, было отмечено значительное преимущество комбинированного подхода [66]. Так, назначение ипилимумаба и ниволумаба пациентам с метастатическими поражениями головного мозга на фоне меланомы, получающими стереотаксическую радиотерапию, позволило улучшить выживаемость без прогрессирования (ВБП) [66]. Одним из наиболее выдающихся можно назвать результаты исследования Pacific, в котором было показано значимое увеличение ВБП у пациентов с НМРЛ на фоне включения дурвалумаба в стандартную схему химиорадиотерапевтического лечения [67].

Стоит отметить, что иммунопрепараты не только активируют действие радиотерапии на облучаемые очаги опухоли, но также могут потенцировать и

абскопальный эффект радиолечения [68]. Так, в исследовании Pacific у пациентов, получавших химиорадиоиммунотерапию, было отмечено более позднее появление отдаленных метастазов по сравнению с пациентами, получавшими химиорадиотерапию [67].

Стоит отметить, что, хотя масштабные исследования эффективности радио- и иммунотерапии ведутся в различных индикациях, например, НМРЛ, меланоме, раке почки, раке головы и шеи, глиобластоме и др. [1], наибольший объем информации о клинической эффективности данного метода лечения на текущий момент может быть получен из данных ретроспективных наблюдений, полученных на пациентах с метастатическими поражениями головного мозга.

Так, в процессе систематического анализа литературы нами было выявлено 84 исследования этой группы. Интерес к применению радио- и иммунотерапии в данной индикации связан с предполагаемым иммуноопосредованным потенцированием абскопального эффекта, что, в свою очередь, может обеспечить контроль над необлучаемыми опухолевыми очагами в мозге и, тем самым, способствовать увеличению общей выживаемости пациентов [69; 70]. Данная гипотеза нашла предварительное подтверждение в отдельных исследованиях, показавших положительный эффект ИКТИ на дистантный интра- и экстракраниальный контроль на фоне радиолечения [71; 72]. Интересно, что при этом многие авторы указывают на отсутствие статистически значимого эффекта ИКТИ на контроль облучаемых опухолевых очагов в головном мозге [71; 73], что расходится с данными доклинических исследований, в которых, как правило, отмечается задержка роста присаженной и облученной опухоли [5; 74].

К негативным последствиям применения нескольких терапевтических воздействий можно отнести увеличение риска побочных эффектов лечения. Радионекроз является одним из наиболее опасных осложнений при облучении головного мозга и может сопровождаться возникновением неврологических нарушений, требующих фармакологической коррекции или хирургического лечения

[75]. Некоторые исследователи отмечают увеличение риска радионекроза на фоне приема ИКТИ [76; 77], однако, результаты ряда ретроспективных анализов расходятся с подобными выводами [73; 78; 79]. Данное противоречие может быть обусловлено сразу несколькими факторами, например, сложностью дифференциальной диагностики радионекроза на снимках, полученных методами магнитной резонансной томографии (МРТ), а также поздним проявлением данного побочного эффекта

Одним из ключевых вопросов в рамках увеличения эффективности и безопасности рассматриваемой комбинации является выбор оптимального режима радиотерапии; данный аспект включает как выбор общей дозы излучения, так и режима фракционирования. Так, например, в доклинических экспериментах наиболее часто применяются однократные режимы облучения в диапазоне 2-25 Гр и фракционные режимы 5x2 Гр, 8x3 Гр или 6x5 Гр [59; 62; 80]. В клинических исследованиях активно используются как гипофракционные режимы облучения (суммарная доза 30-40 Гр, включающая фракции 2 Гр), так и более высокодозное однократное облучение в дозе до 25 Гр, например, стереотаксическая радиотерапия или лучевая терапия с моделированием интенсивности [80; 81].

Другим важным вопросом является очередность радиотерапии и приема иммунных препаратов, позволяющая добиться максимальной эффективности лечения. Доклинические данные указывают на то, что максимальная эффективность может быть достигнута при назначении иммунотерапии до или после радиотерапии, а также одновременно с радиолечением в зависимости от механизма действия назначаемого иммунопрепарата. Так, в доклинических исследованиях было показано, что прием антитела к CTLA-4 за 7 дней до однократного облучения, OX-40 агониста, начиная с 1 дня после радиотерапии и PD-L1-специфичного антитела одновременно с радиолечением обладает большей эффективностью в сравнении с другими терапевтическими схемами [4; 5; 62]. Данные наблюдения указывают на различный вклад тех или иных компонентов МОО в регуляцию иммунной системы в зависимости от этапа развития иммунного ответа, что говорит о важности понимания

динамических изменений МОО для разработки максимально эффективных радиоиммунотерапий.

Другой важной составляющей разработки оптимальной схемы лечения является назначение иммунотерапии с учетом особенностей МОО конкретного пациента, т.е. персонализация лечения [82]. Так, в доклинических испытаниях эффективность PD-L1 и CTLA-4-направленной терапии в значительной степени определялась клеточным составом используемых мышинных опухолей – препараты активно подавляли рост колоректальной мышшиной СТ26 аденокарциномы, характеризующейся значительной инфильтрацией опухоли Т-клеточными популяциями, однако оказались неэффективными в отношении низкоиммуногенной мышшиной В16 меланомы [83–85].

Клинические исследования PD-1/PD-L1 антител со стратификацией пациентов по выраженности PD-L1 экспрессии в сайте опухоли показали более высокую общую выживаемость и ВБП, а также большее количество ответов на терапию в группах пациентов с более высоким уровнем экспрессии биомаркера, что привело к использованию оценки PD-L1 статуса больных для назначения терапии [86]. В настоящее время активно тестируются различные комбинированные биомаркерные стратегии, включающие профилирование генома опухоли, оценку Т-клеточного репертуара и изучение МОО, и предполагающие разработку многофакторных методов оценки вероятности положительных исходов лечения [86–89].

Стоит отметить, что основным источником информации о МОО является биопсия опухоли, однако, в связи с инвазивностью процедуры в исследованиях, как правило, используется однократное или парное взятие биоматериала, что не позволяет проследить динамические изменения МОО [87; 90]. Иммунофенотипическое исследование биопсийного материала проводится методами иммуногистохимии (ИГХ) или проточной цитофлуориметрии [88]. Для характеристики отдельных клеточных популяций в разных исследованиях могут быть использованы различные биомаркеры, что может осложнить сравнение результатов различных экспериментов. Например, для оценки активных Т-лимфоцитов могут использоваться маркеры ICOS,

CD38 или HLA-DR [84]. Зачастую в исследованиях применяются биомаркеры, не позволяющие идентифицировать конкретную популяцию иммунных клеток. Так, использование маркера F4/80 позволяет выделить макрофаги среди других клеточных популяций, однако не дает информации об их про- или противовоспалительной активности [91]. Еще одним фактором, осложняющим интерпретацию результатов анализа биопсийного материала, является гетерогенность МОО, вследствие чего результат анализа может варьироваться в зависимости от места взятия пробы [87].

Подводя итоги, можно сказать, что ключевыми задачами в рамках оптимизации комбинированных радио- и иммунотерапий является выбор наиболее эффективных терапевтических схем и персонализация назначаемого лечения. Выполнение данных задач требует количественной оценки влияния ионизирующего излучения на динамические изменения различных компонентов МОО и идентификацию факторов, определяющих выраженность иммунного ответа. Одним из инструментов, позволяющих интегрировать многочисленные экспериментальные данные в единую картину патогенеза заболевания, является математическое моделирование.

## **1.2. Математическое моделирование как инструмент оптимизации в иммунотерапии онкологических заболеваний**

### **1.2.1. Общие подходы к моделированию в задачах онкологии**

Существует огромное количество работ по моделированию, сфокусированных на решении самых разнообразных фундаментальных и практических задач онкологии, например, изучающих распределение различных метаболитов, питательных веществ и сигнальных молекул в сайте опухоли, описывающих эволюцию генетического аппарата опухолевых клеток или процессов васкуляризации и метастазирования опухоли [92]. В рамках данного исследования будут рассматриваться модели,

используемые для изучения биологических эффектов радио- и иммунотерапевтических воздействий.

Стоит отметить, что математический аппарат моделей, применяемых в задачах онкологии, отличается разнообразием. Наиболее простым способом описания динамики различных компонентов биологической системы во времени является построение систем обыкновенных дифференциальных уравнений (ОДУ). Такие модели могут быть дополнены статистическими методами, позволяющими количественно охарактеризовать межиндивидуальную вариабельность (МИВ) в ответе на терапию. Разрабатываемые в рамках такого подхода нелинейные модели смешанных эффектов (НМСЭ) предполагают использование значений параметров, одинаковых для всех индивидов (фиксированные эффекты), и подобранных отдельно для каждого пациента на основании данных о его ответе на терапию (случайные эффекты) [93]. НМСЭ широко используются в рамках оптимизации режима лечения для различных групп пациентов и изучения факторов, влияющих на биологическую активность препаратов [94].

Менее распространенным подходом является моделирование с использованием систем частных дифференциальных уравнений (ЧДУ); такие модели, как правило, сфокусированы на изучении пространственной неоднородности клеток и метаболитов в сайте опухоли или анализе популяционного состава опухолевых клеток. В то время, как системы ОДУ и ЧДУ относятся к группе непрерывных математических моделей, существует ряд работ, предполагающих построение дискретных математических систем, таких, как агентные и клеточно-автоматные модели, или использование гибридных подходов, например, моделей типа *lattice gas automata* [92].

Особенностью подобных моделей является рассмотрение переменных (например, клеток и метаболитов) на индивидуальном уровне, при этом, данные переменные могут характеризоваться конечным числом состояний. Такие системы могут применяться для симуляции стохастических взаимодействий между различными клеточными популяциями, описания пространственного перемещения и

изменения функционального состояния различных клеток [95]. Стоит отметить, что применение дискретных моделей ограничено сложностью расчетов и количеством времени, необходимым для получения модельных симуляций [96].

Говоря о структуре разнообразных моделей в целом, можно отметить, что она, с одной стороны, является отражением научных концепций того или иного исторического периода, с другой, определяется задачами каждого конкретного исследования. Первые математические модели, появившиеся в 70-х годах XX века, состояли из одного-двух ОДУ, имеющих аналитическое решение; такие модели рассматривали опухоль, как однородную единую структуру, ключевой задачей которых являлось описание динамики роста солидных опухолей [92]. В качестве примера можно привести экспоненциальную модель, аналитическое решение которой позволяет оценить время удвоения новообразования [97]. Ввиду того, что данная модель не учитывает замедление скорости роста опухоли при ее прогрессии ввиду нарастающего дефицита питательных веществ и накопления токсичных метаболитов, впоследствии были предложены уравнения, налагающие ограничения на максимальный размер новообразования, например, уравнения Гомпертца, логистической регрессии и Берталанфи, что позволило более точно описывать данные экспериментов [97] (таблица 1.1).

Первым опытом практического применения такого математического подхода в онкологии можно считать работу Ларри Нортон и Ричарда Саймона (1977), в которой на основании результатов расчетов с использованием уравнения Гомпертца был показан более высокий пролиферативный потенциал небольших опухолей [98]. Для лечения таких новообразований были предложены более интенсивные режимы химиотерапии, что позволило увеличить общую выживаемость (ОВ) и ВБП [99].

Таблица 1.1 – Базовые модели описания динамики роста опухоли

Модель	Система ОДУ	Коэффициенты модели
Экспоненциальная	$\frac{dV}{dt} = \lambda \cdot t$	$\lambda$
Гомпертца	$\frac{dV}{dt} = V \cdot \left(\frac{A}{B}\right) \cdot (1 - (1 - B) \cdot (\exp(-Bt)))$	$A, B$
Берталанфи	$\frac{dV}{dt} = n \cdot V^{2/3} - m \cdot V$	$n, m$
Логистической регрессии	$\frac{dV}{dt} = a \cdot V - b \cdot V^2$	$a, b$

Дальнейшие открытия молекулярной биологии постепенно привели к пониманию опухоли как набора гетерогенных клеточных популяций, характеризующегося сложным пространственно-неоднородным МОО и многочисленными взаимодействиями с организмом хозяина. Изучение механизмов противоопухолевого иммунного ответа, в свою очередь, привело к открытию комплексных взаимосвязей между различными популяциями иммунных и опухолевых клеток, осуществляемых через систему цитокинов, продуктов клеточного метаболизма и непосредственного лиганд-рецепторного взаимодействия.

Такой прогресс в понимании патогенетических механизмов повлек за собой нарастающее усложнение структуры моделей, что позволило более детальное описание биологических эффектов препаратов. В то же время рассмотрение большого количества процессов в сложных моделях повлекло большие неопределенности в оценках модельных параметров ввиду отсутствия необходимой экспериментальной информации для аккуратной количественной характеристики рассматриваемых взаимодействий.

В связи этим, такие модели нашли применение в качестве инструмента качественной проверки различных гипотез в задачах теоретической биологии. Для количественной оценки эффективности различных препаратов в рамках оптимизации онкологических терапий, напротив, наибольшее распространение получили эмпирические фармакокинетические-фармакодинамические модели, позволяющие непосредственно связать фармакокинетический профиль препарата с его противоопухолевой активностью, или полумеханистические модели, предполагающие упрощенное описание механизмов действия препарата.

Резюмируя все вышесказанное, можно отметить, что несмотря на все многообразие возможных подходов математического моделирования и разнообразие путей воспроизведения биологических систем на языке математики, структура моделей диктуется, в первую очередь, задачами и вопросами исследования, а также особенностями экспериментальных данных и механизмами действия рассматриваемых терапий (рисунок 1.3).



Рисунок 1.3 – Определение структуры моделей в рамках исследования биологической активности онкологических препаратов

Дальнейшие разделы посвящены более детальному обзору математических моделей, применяемых в задачах радио- и иммунотерапии.

### 1.2.2. Применение моделирования для оптимизации радиотерапии

Математическое моделирование активно применяется для оптимизации режимов радиотерапии. Основными задачами математических моделей в данном случае является количественное определение биологических эффектов облучения в здоровых тканях и опухолевых очагах с целью минимизации побочных эффектов терапии и достижения максимального возможного токсического воздействия на клетки опухоли [100]. Для количественного анализа эффективности лучевой терапии был предложен ряд радиобиологических моделей с различным математическим аппаратом [101]. Пионерами данной области исследований можно назвать Странкиста и Кохена, чьи работы, опубликованные в 40-х годах XX века, были посвящены изучению дозозависимого эффекта облучения на контроль роста новообразований кожи [100]. Модель время-доза-фракционирование (ВДФ), предложенная Ортоном и Эллисом еще во второй половине XX века, и по сей день активно используется при планировании дозовых нагрузок в рамках оптимизации радиолечения. Данная модель предполагает расчет коэффициента ВДФ, численно характеризующего суммарный биологический эффект терапии [102] (ур. 1.1):

$$\text{ВДФ} = N \cdot d^{1.538} \cdot (T/N)^{-0.169} \cdot 10^3 \quad (1.1)$$

где  $d$  – разовая доза облучения здорового органа,  $T$  – длительность курса лечения,  $N$  – число фракций облучения.

В настоящее время наиболее используемым математическим аппаратом для количественного анализа эффективности радиотерапий является линейно-квадратичная модель (ЛКМ), предложенная Дугласом и Флауэром в 1972 году [103; 104]. Данная модель предполагает полуэмпирическое описание эффектов радиотерапии посредством системы двух ОДУ, связывающих возникновение

радиоиндуцированных двуцепочечных разрывов ДНК с гибелью опухолевых клеток (ур. 1.2, 1.3), и позволяет охарактеризовать как *in vitro* так и *in vivo* активность различных режимов радиотерапии [103; 105; 106]:

$$\frac{dU}{dt} = \delta \cdot R - \left(\frac{U}{\tau}\right) - \gamma \cdot U^2 \quad (1.2),$$

$$\frac{dN}{dt} = -(\alpha \cdot R - \kappa \cdot U^2) \cdot N, \quad (1.3)$$

где  $\delta$ ,  $\tau$ ,  $\gamma$ ,  $\alpha$  и  $\kappa$  – параметры модели,  $U$  – количество двуцепочечных повреждений ДНК,  $N$  – количество опухолевых клеток,  $R$  – доза излучения.

Стоит отметить, что несмотря на свою популярность, ЛКМ обладает рядом допущений, которые ограничивают ее применимость, в частности, данная модель не учитывает изменения радиочувствительности опухолевых клеток в процессе облучения, [107] а также не рассматривает дополнительные механизмы гибели клеток под действием облучения [105], что приводит к некорректному описанию эффективности слишком малых (менее 1 Гр) [108] и больших (более 28 Гр) [109] доз облучения.

Модификация ЛКМ была использована Кевином Ледером для сравнительной оценки эффективности различных режимов однократной и фракционной радиотерапии при лечении экспериментальной мышинной модели глиобластомы. Авторы рассмотрели опухоль в виде совокупности радиорезистентных стволовых и чувствительных к терапии высококодифференцированных клеток и на основе модельных симуляций предложили режимы терапии, обеспечивающие наименьшую скорость вторичного роста опухоли [110].

Другим примером использования математического моделирования для оптимизации радиотерапии можно назвать работу Рассела Рокне, предполагающую анализ снимков МРТ посредством системы ЧДУ в рамках исследований эффективности радиотерапии глиомы; работа показала преимущество более интенсивных и менее частых режимов радиотерапии [111].

Одной из наиболее комплексных моделей, описывающих биологические эффекты радиотерапии, можно назвать многоуровневую работу Беджамина Риббы, в которой рассматривается взаимосвязь между радиоиндуцированными повреждениями ДНК опухолевых клеток, активацией различных сигнальных путей (субклеточный уровень), перераспределением клеток опухоли, находящихся на разных этапах клеточного цикла (клеточный уровень), и процессами роста и инвазии опухоли (макроскопический уровень) [107]. В данной работе было показано, что активация компонентов проапоптотических клеточных сигнальных путей, таких, как транскрипционный фактор p53, является ключевым регулятором радиоиндуцированной гибели клеток опухоли.

Стоит отметить, что минимизация воздействия ионизирующего излучения на нормальную ткань является одной из ключевых задач математического моделирования в практической онкологии. На основании экспериментальных данных был предложен ряд эмпирических формул, позволяющих определение толерантных доз облучения для различных органов [100], или расчет риска развития осложнений в зависимости от объема облучаемой ткани и доставленной дозы [112].

### **1.2.3. Применение моделирования для оптимизации иммунотерапии**

Особенностями структуры иммуноонкологических моделей является рассмотрение эффектов терапии через призму взаимодействия компонентов иммунной системы человека и опухоли. В таких работах могут учитываться конкретные популяции иммунных клеток и рассматриваться взаимодействия между ними, осуществляемые посредством цитокиновых каскадов и рецептор-опосредованных механизмов.

Примером подобной механистической модели можно назвать работу Ксилуана Лай и Авнера Фридмана 2017 года, представляющую собой систему ЧДУ, включающую описание динамики клеток опухоли, дендритных клеток, CD4 и CD8

лимфоцитов, MDSC, IL-2, IL-12, IL-10, трансформирующего ростового фактора- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ), PD-1 и PD-L1 [113]. Целью данной работы являлось изучение взаимодействия MEK/BRAF ингибиторов и PD-L1-специфичных моноклональных антител; в своих расчетах авторы показали, что при больших дозах препаратов может наблюдаться антагонизм.

Другим примером служит модель, предложенная Михаэлем Фернандесем и соавторами в 2017 году для выбора оптимальной комбинированной химио- и таргетной иммунотерапии с использованием иринотекана, различных антител к фактору роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor, VEGF) и TGF, адаптивного клеточного трансфера и рекомбинантного IL-2 [114]. Предложенная система ОДУ описывает динамику опухолевых клеток с различной чувствительностью к препаратам, иммунных клеток (NK, Treg, CD8), цитокинов (TGF и IL-2) и ФК профиль рассматриваемых препаратов.

В своей работе 2005 года Лизетт Деписис использовала математическое моделирование для сравнения вклада различных популяций эффекторных иммунных клеток в противоопухолевую активность вакцин. Автор показала, что CD8 Т-лимфоциты являются ключевым драйвером эффекта терапии [115].

Как можно заметить из схемы ИО цикла (рисунок 1.1), развитие противоопухолевого иммунного ответа предполагает активную миграцию различных популяций иммунных клеток между сайтом опухоли и лимфатической системой, что нашло отражение в отдельных механистических моделях. Модель Жана Полежчука 2016 года, в которой рассматривается распределение Т-лимфоцитов в организме, была использована для объяснения эффектов локальной радиотерапии на необлучаемые метастатические очаги опухоли, находящиеся в различных органах [116]. В модели, предложенной доктором Пэнгом в 2016 году для изучения эффектов комбинированной андроген-депривационной и иммунной терапии с применением IL-2, учитывалось распределение дендритных клеток, Teff и Treg между опухолью и лимфатическими сосудами [117].

Как уже было отмечено ранее, необходимым условием активации специфического Т-клеточного иммунитета является распознавание антигена, представленного на поверхности APC, Т-лимфоцитами, экспрессирующими на своей поверхности подходящие антигенраспознающие рецепторы. Для изучения влияния различных факторов на вероятность наступления данного события был предложен ряд дискретных моделей [118–120].

Другой задачей, предполагающей использование дискретного моделирования, являлось исследование взаимодействий между различными иммуноактивными и иммуносупрессивными компонентами МОО. В работе Чанга Конга проводилось изучение влияния анти-PD-L1 терапии на пространственно-временное распределение различных популяций Т-лимфоцитов, PD-L1-положительных и отрицательных раковых клеток в опухолях с разной степенью иммуногенности [121].

Модель, предложенная Якобом Николасом Катером в 2017 году, позволила изучить влияние стромальных элементов опухоли на эффективность иммунотерапии при лечении колоректальной карциномы. Данная работа показала, что в случае низкой иммуногенности новообразований, строма замедляет скорость прогрессии заболевания, однако, в то же время она является препятствием для проникновения иммунных клеток в сайт опухоли, что может негативно сказаться на эффективности иммунотерапий высокоиммуногенных новообразований [122].

Как уже было отмечено ранее, одной из проблем иммуноонкологии является недостаточность экспериментальных данных для количественной *in vivo* характеристики различных процессов, что зачастую является препятствием для применения комплексных моделей в разработке новых препаратов. Альтернативным подходом является построение упрощенных полуэмпирических систем, оперирующих более собирательными понятиями. Например, в модели, предложенной Зиннией Парра-Гуйлен в 2013 году для описания результатов доклинических исследований вакцинотерапии, дополненной приемом IL-12, вместо конкретных иммуноактивных клеточных популяций рассматривался эмпирический иммунный

сигнал, негативно влияющий на динамику опухоли, а вместо явного описания различных иммуносупрессивных компонентов МОО использовалась эмпирическая функция, обеспечивающая снижение эффективности данного сигнала [123; 124].

Использование методологии НМСЭ в работе позволило установить причины межиндивидуальной вариабельности в ответе на терапию. Было показано, что адаптивная толерантность к действию иммунной системы является ключевым фактором рецидива опухоли под действием рассматриваемого лечения. Другим примером полуэмпирического подхода можно назвать дискретно-временную модель Раффаэля Серре, опубликованную в 2016 году, в которой иммунный ответ на радиотерапию рассматривался в виде двухфазного сигнала, отражающего немонотонные изменения активности эффекторных клеток на фоне активации различных иммуносупрессивных компонентов. Данная модель была использована для описания абскопальных эффектов радиотерапии и изучения эффективности комбинированной радиоиммунотерапии с применением PD-L1 и CTLA-4-специфичных моноклональных антител [125].

В то время, как рассмотренные выше модели сфокусированы на механизмах противоопухолевого иммунного ответа, существует ряд работ, сосредоточенных на изучении фармакологических свойств самих препаратов, например, на их распределении в организме или взаимодействии с мишенью. Такие модели могут быть использованы для подбора стартовой дозы препаратов при проведении I фазы клинических исследований в рамках подхода, предполагающего использование минимальной терапевтической дозы вещества. Так, в 2017 году доктор Линдауэр в своей работе предложил упрощенную физиологически обоснованную модель распределения PD-L1 антитела пембролизумаба в сайте опухоли, при помощи которой была оценена наименьшая доза данного препарата, обладающая биологической активностью [126]. Модель, разработанная Бенджамином Рибба в 2018 году, позволила количественно охарактеризовать мишень-опосредованное распределение препарата *cergutuzumab amunaleukin* – генно-инженерного IL-2

варианта, обладающего сродством к раковому эмбриональному антигену [127]. На основании расчетов было показано, что использование терапий с сокращенными интервалами и постепенным увеличением дозы препарата может обеспечить наиболее эффективный захват препарата опухолью.

\*\*\*

В заключение, можно отметить, что иммуноонкология является молодым и в то же время перспективным направлением исследований – большинство проанализированных нами литературных источников было опубликовано, начиная с 2010 года. В связи с этим, небезосновательным окажется предположение о том, что данная область претерпевает переход от стадии накопления эмпирических наблюдений к получению фундаментального теоретического знания о закономерностях взаимодействия иммунной системы человека и опухоли. В данном случае математическое моделирование может выступить в качестве инструмента формирования и проверки гипотез, необходимых для становления теоретического аппарата. В то же время моделирование активно используется и для решения более практических задач в фармакологии, а именно, – оценки фармакокинетических характеристик препаратов и количественного изучения дозозависимых эффектов терапии с целью подбора оптимального режима дозирования.

В процессе анализа литературы мы обнаружили, что в настоящее время изучаются разнообразные способы влияния на компоненты противоопухолевого иммунного ответа, однако, решили сосредоточить свое внимание на оптимизации комбинированной радиоиммунотерапии методами ввиду (1) наибольшей перспективности данного терапевтического воздействия; (2) невозможности использования простых методов анализа данных для оценки взаимосвязи доза-эффект вследствие применения сложных терапевтических схем; (3) достаточного объема

клинической информации для достоверной валидации полученных результатов расчетов.

Из всего многообразия изученных методологий математического моделирования нами был выбран системно-фармакологический подход в комбинации с аппаратом НМСЭ, позволяющий количественно изучить дозозависимые эффекты терапии на компоненты противоопухолевого иммунитета и динамику роста опухоли, а также охарактеризовать межиндивидуальную вариабельность в ответе на терапию.

## **ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **2.1. Материалы исследования**

#### **2.1.1. Экспериментальные животные**

Доклинические исследования проведены на 145 иммунокомпетентных особях инбредных мышей-самцов альбиносов (BALBc) массой 18–25 г. Эксперименты были одобрены Локальным этическим комитетом под лицензией United Kingdom Home Office и проведены в академическом исследовательском центре наук о здоровье Манчестера (Manchester Academic Health Sciences Centre). Животных содержали в соответствии с нормами группового размещения при температуре воздуха 18–20 °C и относительной влажности воздуха 40–70% на стандартной диете в условиях свободного доступа к очищенной водопроводной воде. Эксперименты проводили после 20-дневной адаптации животных в виварии. Для получения опухолевой модели животным был пересажен инокулят, содержащий  $5 \cdot 10^5$  клеток СТ26-мышинной колоректальной аденокарциномы.

#### **2.1.2. Моноклональные антитела к PD-1 и PD-L1**

Использовались мышинные моноклональные антитела, специфичные к PD-1 (клон RMP1-14, Biolegend U.K.), PD-L1 (клон 10F.9G2, Biolegend U.K.), а также изотипичное контрольное антитело (Biolegend U.K.). Деплеция CD8 Т-лимфоцитов осуществлялась путем однократного введения CD8-специфичного моноклонального мышинового антитела (клон YTS169, Southampton University, U.K.).

### 2.1.3. Радиолечение

Радиолечение проводилось при помощи рентгеновской установки Pantak HF-320320 (напряжение в трубке составляло 300кВ, толщина половинного поглощения излучения для меди равнялась 2.3 мм). Опухоль находилась на расстоянии 350 мм от источника излучения, мощность поглощенной дозы излучения составила 0.8 Гр/мин. В экспериментах использовались как гипофракционные режимы радиотерапии: 5 фракций по 2 Гр (5x2 Гр); 3 фракции по 4 Гр (3x4 Гр), так и однократное облучение (7 Гр).

## 2.2. Методы исследования

### 2.2.1. Оценка противоопухолевой активности моно- и радиоиммунотерапии

В данной работе были использованы стандартные методы исследований противоопухолевой активности иммунотерапий с использованием сингенных мышинных опухолевых моделей [128].

Оценка эффективности тестируемых терапий проводилась посредством измерения наибольшего и наименьшего диаметров опухолей в мм; замеры осуществлялись 2 раза в неделю при помощи штангенциркуля, объем опухоли TV рассчитывался с использованием уравнения 2.1 [129]:

$$TV = a \cdot \frac{1}{2} b^2, \quad (2.1)$$

где a – наибольший, b – наименьший диаметры опухоли.

### 2.2.2. Статистическая обработка экспериментальных данных

В качестве показателя эффективности терапии был использован индекс ингибирования роста опухоли TGI (ур. 2.2) [130]:

$$TGI = \left(1 - \frac{\text{GeomMean}(\text{Treat}_1)}{\text{GeomMean}(\text{Contr})}\right) \cdot 100\%, \quad (2.2)$$

где  $\text{GeomMean}(\text{Treat}_1)$  и  $\text{GeomMean}(\text{Contr})$  – геометрические средние показатели объема опухолей в 1-ой и контрольной группе соответственно на момент окончания эксперимента.

Стоит отметить, что простое сравнение показателей динамики роста опухоли в контрольной группе и группах лечения не всегда является корректным, так как животные с прогрессией заболевания могут выбывать из эксперимента до его окончания. В таком случае расчет среднего объема опухоли на основании оставшихся в эксперименте животных может привести к смещенной оценке эффективности терапии. В связи с этим, в данной работе оценка межгрупповых различий была возможна только для начальных этапов эксперимента ( $\leq 15$  дней с момента начала эксперимента). В качестве альтернативного показателя эффективности терапии оценивалась доля животных в каждой из групп лечения с полной регрессией опухоли на момент окончания эксперимента («респондеров»).

### **2.2.3. Разработка математической модели противоопухолевого иммунного ответа**

Как было отмечено выше, возможности использования показателя TGI для оценки эффективности терапии ограничены ввиду выбывания животных из эксперимента, в то же время сравнение количества респондеров в группах лечения также является недостаточно информативным в связи с небольшими объемами выборок, используемыми в доклинических исследованиях (5–10 особей на группу лечения) [131]. Для более полной количественной оценки эффективности рассматриваемых терапевтических воздействий нами были использованы методы математического моделирования.

### 2.2.3.1. Описание общей структуры уравнений модели

В работе применялась методология НМСЭ, детально описанная в следующих публикациях [93; 132–135]. В данном случае значение зависимой переменной, а именно, размера опухоли у  $j$ -того животного в момент времени  $i$  ( $TV_{ij}$ ) определяется нелинейными функциями  $f$  и  $g$ , параметров  $\psi_i$ , и дополнительного вектора фиксированных параметров  $\sigma$ , а также случайной ошибкой эксперимента  $e_{ij}$  (ур. 2.3):

$$TV_{ij} = f(t_{ij}, \psi_i) + g(t_{ij}, \psi_i, \sigma) \cdot e_{ij} \quad (2.3)$$

Ошибки экспериментов  $e_{ij}$  предполагаются различными для каждого измерения и считаются распределенными нормально случайными величинами со средним значением 0 и дисперсией  $\sigma^2$ :  $e_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$ . Вектор  $\sigma$  задается моделью ошибки, которая может быть постоянной, пропорциональной или комбинированной (таблица 2.1):

Таблица 2.1 – Модели ошибок, используемые в НМСЭ

Модель ошибки	$\Sigma$	Влияние ошибки на модельные расчеты
Постоянная	$\sigma = (a)$	$TV_{ij} = f + a \cdot e$
Пропорциональная	$\sigma = (b)$	$TV_{ij} = f + b \cdot e \cdot f$
Комбинированная 1	$\sigma = (a, b)$	$TV_{ij} = f + a \cdot e + b \cdot e \cdot f$
Комбинированная 2	$\sigma = (a, b)$	$TV_{ij} = f + \sqrt{a^2 + b^2 \cdot f^2}$

Значения  $\psi_i$  определяются вектором популяционных значений  $\mu$ , предполагаемых одинаковыми для всех индивидов, и индивидуальных значений  $\eta_i$ , различными для каждого субъекта; предполагается, что  $\eta_i$  распределены по определенному закону, задаваемому функцией  $h(\psi_i)$  (ур. 2.4):

$$\phi_i = h(\psi_i) = \mu + \eta_i \quad (2.4)$$

В случае предположения о нормальном распределении индивидуальных параметров  $\phi_i = \psi_i$ , в случае логнормального распределения  $\phi_i = \log(\psi_i)$  и т.д. Межиндивидуальная вариабельность в параметрах  $\eta_i$  задается многомерным нормальным распределением:  $\eta \sim N(0, \Omega)$ . Ошибки измерений  $e_{ij}$  и индивидуальные эффекты  $\eta_i$  предполагаются взаимонезависимыми.

### 2.2.3.2. Верификация модели

Для определения количественных связей между компонентами рассматриваемой биологической системы проводится оценка значений модельных параметров – верификация модели. В данной работе значения части параметров определялись на основании литературных данных, значения оставшихся параметров оценивались на основании данных, полученных в описанных выше доклинических экспериментах. Для количественной оценки согласия между экспериментальными данными и модельными симуляциями использовался принцип максимального правдоподобия, детально изложенный в [132]. Кратко, функция максимального правдоподобия (ФМП)  $L(y; \theta)$  определяется вектором параметров модели  $\theta$ , включающим параметры модели ошибки, популяционные и индивидуальные параметры, определяемые матрицей ковариаций:  $\theta = (\mu, \text{vec}(\Omega), \sigma)$ . Общее значение ФМП представляет собой произведение индивидуальных значений ФМП  $L_i(y_i; \theta)$ , описывающих вероятность совпадения экспериментальных наблюдений с расчетными значениями модели (ур. 2.5):

$$L(y_i; \theta) = \prod_{i=1}^N L(y_i; \theta) = \prod_i p(y_i | \theta) = \prod_i \int_D p(y_i | \eta_i, \theta) p(\eta_i | \theta) d\eta_i, \quad (2.5)$$

где  $p(y_i | \eta_i; \theta)$  – условная вероятность наблюдений для индивидуальных случайных эффектов,  $p(\eta_i; \theta)$  – вероятность индивидуальных случайных эффектов и

$p(y_i; \eta_i; \theta)$  – вероятность всех наблюдений, которая соответствует сумме наблюдений и случайных эффектов.

Поиск оптимальных значений параметров осуществлялся при помощи алгоритма стохастической аппроксимации (stochastic approximation expectation maximization, SAEM), детально описанного в работе [132].

### 2.2.3.3. Оценка качества модели

Результат верификации оценивался посредством анализа ряда диагностических графиков, отражающих степень согласия между экспериментальными наблюдениями и модельными расчетами. Были использованы следующие диагностические графики:

– графики рассчитанных популяционных и индивидуальных значений размера опухоли в момент времени  $i$   $E(TV_i)$   $E(TV_{ij})$ , соответственно, полученных с использованием ур. 2.6 и 2.7, против экспериментальных наблюдений:

$$E(TV_i) = f(t_{ij}, \hat{\mu}) \quad (2.6),$$

$$E(TV_{ij}) = f(t_{ij}, h(\hat{\mu}, \hat{\eta}_i)), \quad (2.7)$$

где  $h$  – функция оцененных значения параметров  $\hat{\mu}$  и  $\hat{\eta}_i$ .

– графики сравнения динамических изменений расчетных распределений объема опухоли во времени с экспериментальными данными. Для расчета динамических изменений распределения величины во времени из установленных распределений индивидуальных параметров  $\phi_i$  случайным образом были сгенерированы 1000 значений, которые были использованы для расчета индивидуальной динамики роста опухоли, после чего была оценена медиана расчетов, отражающая наиболее вероятную динамику роста опухоли в популяции, а также 30-, 60- и 90-процентные доверительные интервалы расчетов, соответствующие вероятности появления экспериментального наблюдения в заданном диапазоне.

– графики распределения популяционных и индивидуальных взвешенных остатков (population и individual weighted residuals, PWRES<sub>i</sub> и IWRES<sub>i</sub>, соответственно), рассчитанных по формулам 2.8 и 2.9 соответственно [93]:

$$PWRES_i = \text{Var}(TV_i)^{-1/2} \cdot (TV_{y_i} - E(TV_i)) \quad (2.8),$$

$$IWRES_{ij} = \sum h(\hat{\mu}, \hat{\eta}_i) \cdot (TV_{ij} - E(TV_{ij})), \quad (2.9)$$

где  $\text{Var}(TV_i)$  – рассчитанная в модели матрица ковариаций.

– графики распределения определенных индивидуальных параметров.

В случае некорректного или смещенного воспроизведения экспериментальных данных делался вывод о необходимости пересмотра биологических гипотез, заложенных в структуру модели, или характера предполагаемых функциональных зависимостей, и рассматривались альтернативные варианты модели. Выбор оптимальной модели осуществлялся на основании значения ФМП [132].

Анализ идентифицируемости модели предполагал оценку неопределенности значений модельных параметров, численно характеризующуюся стандартными ошибками оцененных значений параметров, рассчитанных при помощи информационной матрицы Фишера (уравнение 2.10) [132]:

$$I(\hat{\theta}) = -\sigma_{\theta}^2 \log L(y_i; \theta) \quad (2.10)$$

При наличии неидентифицируемых параметров (значение ошибки параметра составляло более 50%) делался вывод о невозможности достоверного определения количественных связей между компонентами модели и принималось решение об упрощении структуры модели или поиска дополнительной информации для определения модельных параметров.

#### 2.2.3.4. Валидация модели

Проверка предсказательной способности модели осуществлялась посредством валидации – сопоставления рассчитанной в модели динамики роста опухоли с

данными независимых экспериментов, в которых изучалась активность альтернативных режимов лечения и не использованными при верификации модельных параметров. Таким образом, в процессе валидации оценивалась возможность использования модели для экстраполяции противоопухолевой активности радио- и иммунотерапии. В случае расхождений между модельными расчетами и данными эксперимента структура модели пересматривалась, после чего процедуры верификации, анализа идентифицируемости и валидации модели проводились повторно.

#### **2.2.4. Проведение метаанализа клинических исследований**

Оценка клинической эффективности радиоиммунотерапии осуществлялась посредством метаанализа опубликованных данных клинических исследований, проведенного в соответствии с методическими рекомендациями по проведению метаанализа ФГБУ «ЦЭКМП» Минздрава России [136] и руководства по метаанализу обсервационных исследований в эпидемиологии (Meta-analyses Of Observational Studies in Epidemiology, MOOSE) [137]; описание процедур проводилось согласно списка предпочтительных элементов отчетности для систематических обзоров и метаанализа (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses, PRISMA) [138].

##### **2.2.4.1. Систематический поиск и сбор информации**

На первом этапе осуществлялся систематический поиск информации в базе данных публикаций PubMed [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>], также были изучены сборники материалов ключевых международных конференций по онкологии и радиотерапии: ежегодных конгрессов европейского сообщества медицинской онкологии (ESMO), американского сообщества клинической онкологии (ASCO), а

также американского сообщества радионкологии (ASTRO). Рассматривались работы, опубликованные на английском языке. Для поиска была использована следующая комбинация слов:

*(radiotherapy OR radiosurgery) AND (immunotherapy OR nivolumab OR pembrolizumab OR atezolizumab OR durvalumab OR ipilimumab OR tremelimumab OR lambrolizumab OR ticilimumab OR cemiplimab OR PD-1 OR PD-L1 OR CTLA-4) AND (brain AND metastases)*

#### **2.2.4.2. Критерии отбора исследований**

Были использованы следующие критерии отбора публикаций для включения в метаанализ:

– в публикациях должны быть отражены результаты проспективных или ретроспективных клинических исследований, проведенных более чем на 10 пациентах с олигометастатическими поражениями головного мозга (5 и менее опухолевых очагов);

– в публикациях должны быть рассмотрены исходы лечения на фоне приема ИКТИ – PD-1/PD-L1 или CTLA-4-специфичных моноклональных антител в комбинации с лучевой терапией;

– в публикациях должен рассматриваться, по крайней мере, один из следующих показателей эффективности или безопасности терапии: (1) одногодичная ОВ – процент пациентов, выживших в течение года с момента начала лечения [139]; (2) одногодичный локальный опухолевый контроль (ЛОК) – контроль облучаемого опухолевого очага – процент пациентов с уменьшением или менее, чем 20% увеличением облучаемого опухолевого очага в течение года с момента начала лечения; (3) процент пациентов, у которых в течение всего периода исследования наблюдались признаки радионекроза [140].

### 2.2.4.3. Извлечение и систематизация данных

Информация об исходах терапии была непосредственно извлечена из текстов статей или получена путем оцифровки кривых выживаемости Каплана-Мейера. При наличии контрольной группы, получающей моно-радиолечение, информация по эффективности терапии была дополнительно извлечена для этих пациентов.

На первом этапе проводилось сравнение эффективности моно-радиотерапии и комбинированной радиоиммунотерапии. В рамках данной задачи рассчитывалось отношение рисков для соответствующих групп (ур. 2.11):

$$OR = \frac{a/b}{c/d}, \quad (2.11)$$

где  $a$  и  $b$  – количество пациентов с положительным исходом и общее число пациентов в группах, получающих радиоиммунотерапию,  $c$  и  $d$  – количество пациентов с положительным исходом и общее число пациентов в группах, получающих моно-радиолечение, соответственно.

Дополнительно проводилось сравнение обобщенной величины эффекта для групп, получающих моноррадиотерапию и комбинированную радио- и иммунотерапию. Расчет 95% ДИ для исходов индивидуальных исследований был осуществлен с использованием ур. 2.12 [141]:

$$p = p \pm z \cdot \sqrt{p \cdot (1 - p)/n}, \quad (2.12)$$

где  $p$  – значение рассматриваемого исхода (одногодичной ОВ или ЛОК, радионекроза) в группе лечения или контрольной группе,  $z$  – 0.9% квантиль стандартного нормального распределения  $n$  – количество пациентов в контрольной группе или группе лечения.

Для преодоления 0 и 100%-эффекта была использована угловая трансформация (ур. 2.13) [142], после чего было выполнено обратное преобразование:

$$p_{tr} = \text{Arcsin}(\sqrt{p}), \quad (2.13)$$

где  $p_{tr}$  – трансформированное значение исхода.

Дополнительно была собрана информация об используемых в исследованиях классах ИКТИ, режиме облучения и времени назначения ИКТИ относительно курса радиотерапии. ИКТИ классифицировались как «PD-1/PD-L1 Ab» в случае применения PD-1/PD-L1-специфичных моноклональных антител, «CTLA-4 Ab» в случае применения CTLA-4-специфичных моноклональных антитела или «mixed» в случае применения обеих групп препаратов. Режим назначения ИКТИ был классифицирован как «одновременный» (назначение ИКТИ в течение месяца до или после курса радиотерапии) или «последовательный» (назначение ИКТИ более, чем через месяц до или после курса радиотерапии); в случае отсутствия информации о времени назначения ИКТИ режим лечения маркировался как «неизвестный». Режимы радиотерапии классифицировались как стереотаксические, если в испытаниях использовались только методы стереотаксической радиохирургии (СРХТ), и смешанные, если наряду с СРХТ использовались традиционные методы радиотерапии, такие как облучение всего головного мозга (ОВГМ).

Дополнительно изучалась информация о функциональном статусе пациента по шкале Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) или Карновского, количестве и генезе метастатических очагов, а также предшествующей системной терапии.

#### **2.2.4.3. Расчет обобщенной оценки величины эффекта**

Исходя из предположения о множественных различиях в дизайне исследований, расчет обобщенной оценки величины эффекта осуществлялся при помощи метааналитических моделей случайных эффектов [143]. В используемой методологии предполагается, что значение исхода  $\Theta$  в  $i$ -том исследовании ( $\Theta_i$ ) определяется обобщенной величиной эффекта  $\beta_0$  и параметром  $u_i$ , отражающим влияние индивидуальных особенностей дизайна исследований на данную величину (ур. 2.14):

$$\Theta_i = \beta_0 + u_i \quad (2.14)$$

Предполагается, что параметр  $u_i$  следует нормальному распределению со средним значением 0 и дисперсией  $\tau^2$ : ( $u_i \sim N(0, \tau^2)$ ).

На втором этапе анализа оценивалось влияние различных факторов (например, функционального статуса пациентов, линии терапии и т.д.) на исходы лечения посредством построения моделей смешанных эффектов [144]. Данный подход предполагает использование следующей модификации ур. 2.15:

$$\theta_i = \beta_0 + \beta_1 \cdot x_{i1} + \dots + \beta_p \cdot x_{ij} + u_i, \quad (2.15)$$

где  $x_{ij}$  – значение  $j$ -того фактора в  $i$ -том исследовании,  $\beta_p$  – вклад данного фактора в обобщенную оценку величины исхода,  $u_i$  – случайная величина, следующая нормальному распределению с медианой 0 и дисперсией  $\tau^2$ :  $u_i \sim N(0, \tau^2)$ .

Оценка обобщенного эффекта осуществлялась с использованием метода ДерСимониан и Ларда. Оценка общей гетерогенности данных проводилась при помощи индекса гетерогенности  $I^2$  и Q-критерия Кохрена; вероятность искажения информации в публикациях оценивалась посредством теста Эггера и анализа воронкообразных диаграмм рассеяния в соответствии с методическими рекомендациями по проведению метаанализа [136]. Более детальное описание методологических аспектов представлено в источнике [144].

### 2.2.5. Программное обеспечение

Для статистической обработки, форматирования, анализа и визуализации полученных экспериментальных данных была использована программная среда R (версия 3.5.1) (пакеты `tidyr`, `ggplot2`, `reshape2`, `gridExtra` и `dplyr`) [R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>].

Для компиляции и верификации математической модели использовалось программное обеспечение (ПО) Monolix 2016 (Lixoft ©). Для получения и визуализации модельных расчетов был использован R-пакет mlxR (Lixoft ©).

Оцифровка кривых выживаемости Каплан-Мейера осуществлялась в ПО Grafula (версия 3). Метаанализ осуществлялся в R-пакете metaphor [144].

## ГЛАВА 3. ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ PD-1/PD-L1 АНТИТЕЛ НА ФОНЕ РАДИОЛЕЧЕНИЯ

В данной главе представлены результаты доклинических исследований эффективности комбинированной радио- и иммунотерапии. Дизайн исследований резюмирован на рисунке 3.1. Начиная с 7 дня эксперимента животные были случайным образом разделены на группы, включающие от 6 до 12 особей, после чего им был назначен один из режимов терапии. В рассматриваемых экспериментах оценивалась эффективность различных режимов радио- и иммунотерапий, а также их комбинаций; дополнительно изучалось влияние деплеции CD8 Т-лимфоцитов на эффективность лечения.

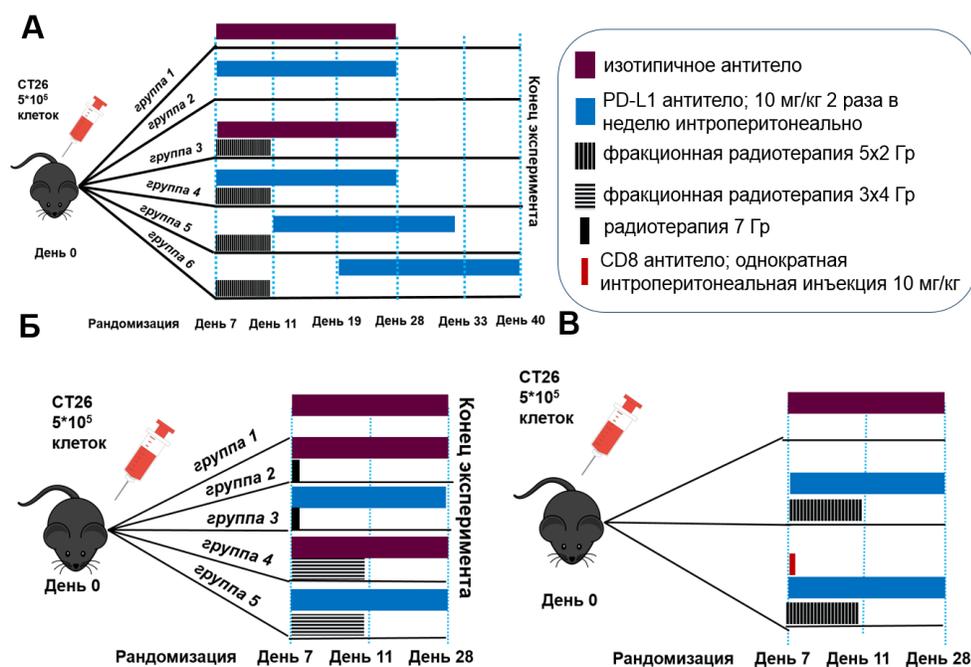


Рисунок 3.1 – Дизайн исследований. А. Эксперимент 1: Изучение влияния временного интервала между радио- и иммунотерапией на эффективность лечения; Б. Эксперимент 2: Изучение влияния режима радиотерапии на противоопухолевую активность PD-1/PD-L1 антител; В. Эксперимент 3: Оценка противоопухолевой активности радиоиммунотерапии при иммунодефицитных состояниях

### **3.1. Изучение влияния временного интервала между радио- и иммунотерапией на эффективность лечения**

Многие авторы подчеркивают, что противоопухолевый иммунный ответ является динамическим многостадийным процессом, каждый этап которого регулируется рядом активирующих и супрессивных воздействий [18; 20; 146]. В связи с этим, время назначения иммуномодуляторов является одним из важных факторов успеха терапии [5]. В рассматриваемых экспериментах сравнивалась эффективность монорadioлечения в режиме 5x2 Гр, иммунотерапии анти-PD-L1-специфичным моноклональным антителом, а также их комбинации при одновременном и последовательном назначении. Изучение синергетических противоопухолевых эффектов радио- и иммунотерапии в зависимости от времени начала анти-PD-1/PD-L1 терапии относительно радиотерапии при режиме облучения 5x2 Гр было проведено на 80 животных, разделенных на 6 групп, каждая из которых получала разные виды терапии:

(1) группа «Контроль» – два раза в неделю на протяжении 3 недель животные получали внутрибрюшинные (в/б) инъекции 100 мкл раствора, содержащего 10 мг/кг изотипичного контрольного антитела;

(2) группа «анти-PD-L1» – два раза в неделю на протяжении 3 недель животные получали в/б инъекции 100 мкл раствора, содержащего 10 мг/кг анти-PD-L1-специфичного моноклонального антитела;

(3) группа «5x2 Гр» – животные получали фракционную радиотерапию в режиме 5x2 Гр в комбинации с терапией 1 (одновременный прием);

(4) группа «5x2 Гр + анти-PD-L1, режим 1» – животные получали фракционную радиотерапию в режиме 5x2 Гр в комбинации с терапией 2 (одновременный прием);

(5) группа «5x2 Гр + анти-PD-L1, режим 2» – животные получали фракционную радиотерапию в режиме 5x2 Гр в комбинации с терапией 2 (прием терапии 2 на 12 день эксперимента);

(6) группа «5х2 Гр + анти-PD-L1, режим 3» – животные получали фракционную радиотерапию в режиме 5х2 Гр в комбинации с терапией 2 (прием терапии 2 на 19 день эксперимента);

Результаты эксперимента представлены в таблице 3.1.

Таблица 3.1 – Противоопухолевая активность рассматриваемых терапий на 14 день эксперимента

Лечение	Количество животных	Среднее значение TV $\pm$ CO, мм <sup>3</sup>	TGI, %
Контроль, повтор 1	7	625,1 $\pm$ 109,3	0
Контроль, повтор 2	10	652,7 $\pm$ 117,6	0
анти-PD-1/PD-L1	14	418,4 $\pm$ 84,3	42,6
5х2 Гр-1	7	345,9 $\pm$ 43,9*	43,4*
5х2 Гр-2	9	136,7 $\pm$ 22*	77,1*
5х2 Гр + анти-PD-L1, режим 1, повтор 1	6	231,5 $\pm$ 32,6*	62,4*
5х2 Гр + анти-PD-L1, режим 1, повтор 2	6	133,9 $\pm$ 36,2*	80,5*
5х2 Гр + анти-PD-L1, режим 2	7	258,4 $\pm$ 24*	56,3*
5х2 Гр + анти-PD-L1, режим 3, повтор 1	7	328,5 $\pm$ 48,2*	47,2*
5х2 Гр + анти-PD-L1, режим 3, повтор 2	7	176,9 $\pm$ 42,6*	73,5*

Примечание. CO – стандартное отклонение. TGI – индекс ингибирования роста опухоли по отношению к контролю, TV – объем опухоли. Значимость различий оценивалась с использованием U-критерия Манна-Уитни (\* –  $p < 0,05$ ).

Динамика роста опухоли в рассматриваемом эксперименте отображена на рисунке 3.2.

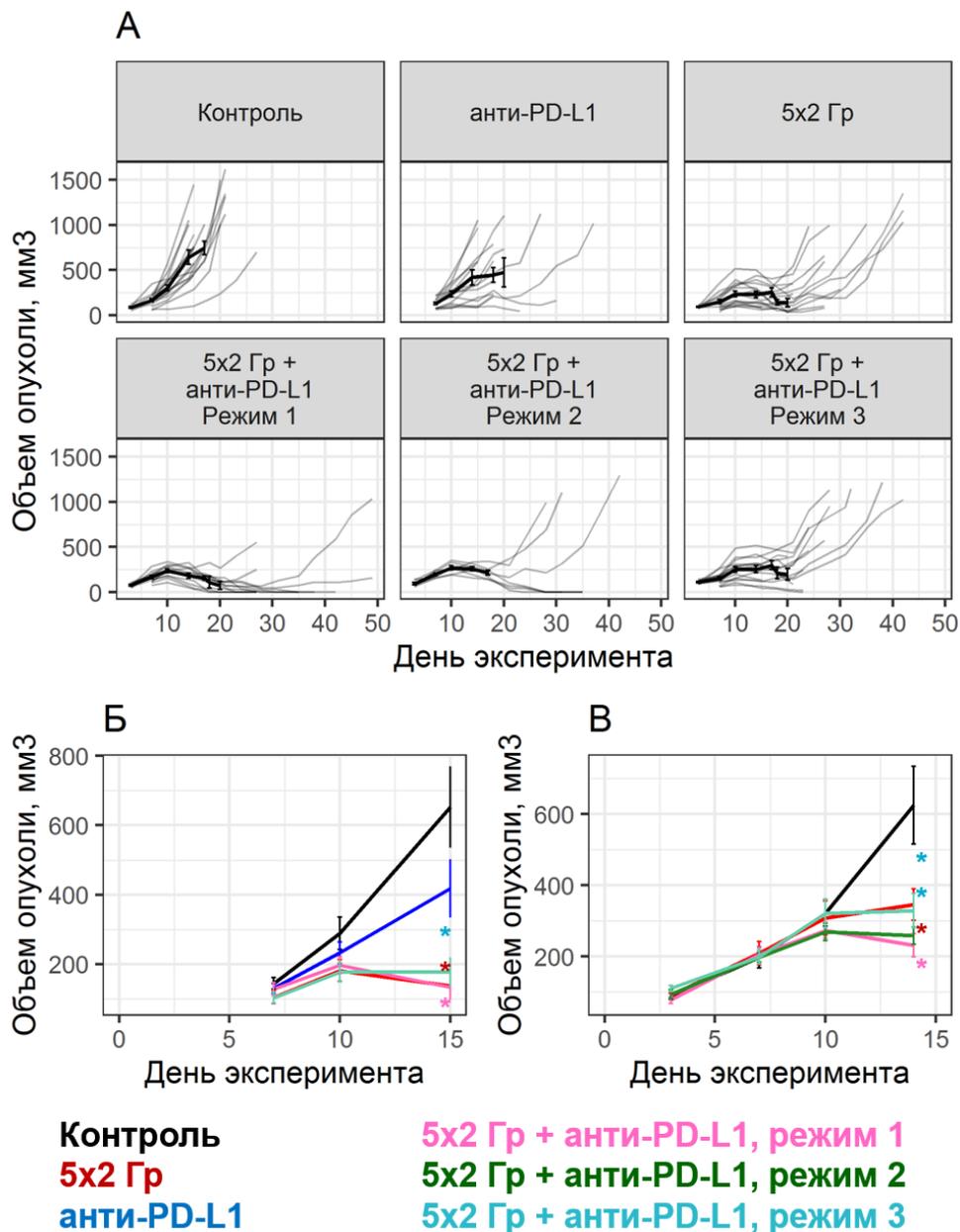


Рисунок 3.2 – Динамика роста опухоли в группе экспериментов 1. А. Индивидуальные измерения, на графиках отражено количество животных с полным ответом на терапию в соответствующих группах лечения. Б, В. Средние значения динамики роста опухоли в рассматриваемых экспериментах, планки погрешностей – стандартные ошибки измерения. Значимость различий оценивалась с использованием U-критерия Манна-Уитни (\* –  $p < 0,05$ )

Как видно из таблицы 3.1, радиотерапия показала выраженный противоопухолевый эффект (TGI на 14 и 15 день лечения составил 43,4% и 77% для двух экспериментов,  $p = 0,038$  и  $0,0017$ , соответственно), однако не была достаточно эффективной для достижения полной регрессии опухоли. В то же время иммунотерапия не показала статистически значимой эффективности (TGI на 14 день лечения составил 42%,  $p = 0,12$ ), однако, в отличие от радиотерапии, данное лечение привело к регрессии опухоли у 1 из 14 животных (рисунок 3.2). Одновременный прием комбинированной терапии вызвал отторжение опухоли у 4 из 6 животных в группе лечения; TGI на 14 день лечения составил 62,4% и 80,5 в двух группах лечения ( $p = 0,0012$  и  $0,0056$ , соответственно). В группах, получающих иммунотерапию после радиолечения, процент респондеров оказался ниже по сравнению с группами, получающими рассматриваемое лечение одновременно, – лишь в одном из экспериментов 2 из 7 животных ответили на терапию (рисунок 3.2).

Таким образом, можно сделать вывод о более высокой эффективности комбинированной радио- и иммунотерапии по сравнению с лучевой терапией, при этом максимальный эффект лечения достигается при одновременном назначении терапевтических воздействий.

### **3.2.Изучение влияния режима радиотерапии на противоопухолевую активность PD-1/PD-L1 антител**

Данные *in vitro* исследований указывают на дозозависимый иммуностимулирующий эффект ионизирующего излучения [80], в связи с чем суммарная доза и режим фракционирования могут влиять на эффективность иммунотерапии. Данная гипотеза была проверена во второй группе экспериментов, где исследовалась противоопухолевая активность анти-PD-L1 антител в сочетании с режимами радиотерапии 1x7 и 3x4 Гр; были протестированы следующие режимы терапии:

(1) группа «Контроль» – два раза в неделю на протяжении 3 недель животные получали в/б инъекции 100 мкл раствора, содержащего 10 мг/кг изотипичного контрольного антитела;

(2) группа «7 Гр» – животные получали однократное облучение в дозе 7 Гр в комбинации с терапией 1;

(3) группа «7 Гр + анти-PD-L1» – животные получали однократное облучение в дозе 7 Гр в комбинации с в/б инъекциями 100 мкл раствора, содержащего 10 мг/кг анти-PD-L1-специфичного моноклонального антитела;

(4) группа «3x4 Гр» – животные получали фракционное облучение в дозе 3x4 Гр в комбинации с терапией 1;

(5) группа «3x4 Гр + анти-PD-L1» – животные получали фракционное облучение в дозе 3x4 Гр в комбинации с в/б инъекциями 100 мкл раствора, содержащего 10 мг/кг анти-PD-L1-специфичного моноклонального антитела;

Результаты эксперимента представлены в таблице 3.2.

Таблица 3.2 – Противоопухолевая активность рассматриваемых терапий на 14 день эксперимента

Лечение	Количество животных	Среднее значение TV $\pm$ CO, мм <sup>3</sup>	TGI, %
Контроль	6	435,6 $\pm$ 99,7	0
7 Гр	7	96,7 $\pm$ 18,1*	77,9*
3x4 Гр	8	125,2 $\pm$ 25,2*	70,9*
7 Гр + анти-PD-L1	7	60,6 $\pm$ 23,3*	100*
3x4 Гр+ анти-PD-L1	7	86,7 $\pm$ 23,8*	81,3*

Примечание. CO – стандартное отклонение. TGI – индекс ингибирования роста опухоли по отношению к контролю, TV – объем опухоли. Значимость различий оценивалась с использованием U-критерия Манна-Уитни (\* –  $p < 0,05$ ).

Динамика роста опухоли в рассматриваемом эксперименте отображена на рисунке 3.3.

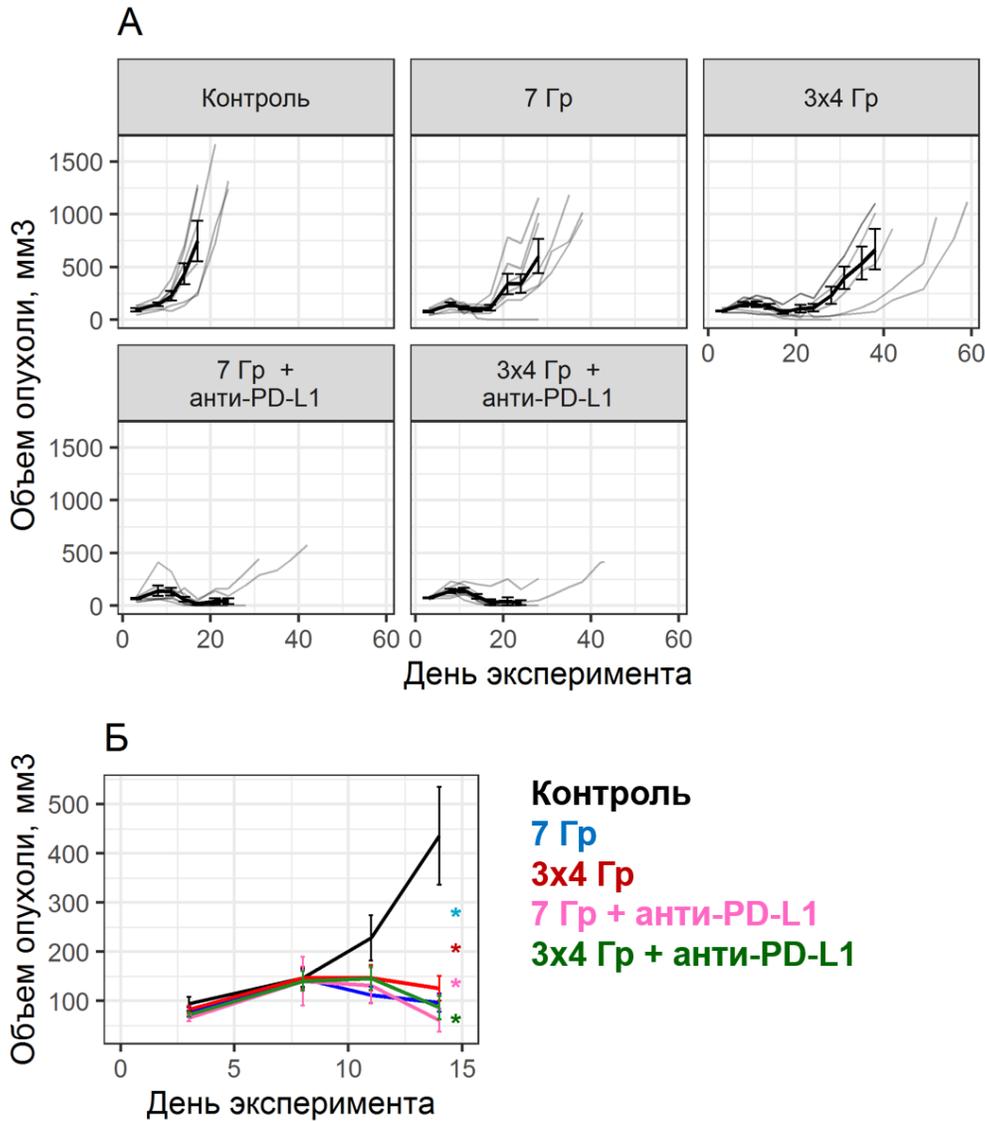


Рисунок 3.3 – Динамика роста опухоли в эксперименте 2: А. Индивидуальные измерения, на графиках отражено количество животных с полным ответом на терапию в соответствующих группах лечения. Б. Средние значения динамики роста опухоли в рассматриваемых экспериментах, планки погрешностей – стандартные ошибки измерения. Значимость различий оценивалась с использованием U-критерия Манна-Уитни (\* –  $p < 0,05$ )

Как и в предыдущей группе экспериментов, наблюдалось выраженное ингибирование роста опухоли под действием лучевой терапии (TGI составил 77,9% и 70,9% для режимов 7 Гр и 3x4 Гр соответственно,  $p = 0,0047$  и  $0,024$ ), однако, в отличие от режима 5x2, режимы 7 Гр и 3x4 Гр вызвали ответ у 1 и 2 животных соответственно (рисунок 3.3). Эффективность комбинированной радио- и иммунотерапии для режимов 7 Гр и 3x4 Гр оказалась сопоставима с режимом 5x2 Гр (5 респондеров из 7 для каждой обеих групп).

На основании полученных результатов можно подтвердить наличие синергии между радио- и иммунотерапией при различных режимах облучения, при этом нельзя сделать однозначного вывода в пользу того или иного режима.

### **3.3. Результаты оценки противоопухолевой активности радиоиммунотерапии при иммунодефицитных состояниях**

Заключительным этапом экспериментальной части являлось изучение влияния деплеции Т-лимфоцитов на эффективность комбинированной радиоиммунотерапии. Исследования проводились на 30 животных; были использованы следующие режимы лечения:

(1) группа «Контроль» – два раза в неделю на протяжении 3 недель животные получали внутрибрюшинные инъекции 100 мкл раствора, содержащего 10 мг/кг изотипичного контрольного антитела; (2) фракционная радиотерапия 5x2 Гр + терапия 2 (одновременное начало терапий) – «5x2 Гр + анти-PD-L1, режим 1»;

(2) группа «5x2 Гр + анти-PD-L1, режим 1» – животные получали фракционную радиотерапию в режиме 5x2Гр в комбинации с в/б инъекциями 100 мкл раствора, содержащего 10 мг/кг анти-PD-L1-специфичного моноклонального антитела

(3) группа «5x2 Гр + анти-PD-L1+анти-CD8»; животные получали фракционную радиотерапию в режиме 5x2 Гр в комбинации с в/б инъекциями 100 мкл раствора, содержащего 10 мг/кг анти-PD-L1-специфичного моноклонального

антитела; за день перед началом терапии животные получали однократную инъекцию CD8-специфичных моноклональных антител.

Динамика роста опухоли в рассматриваемом эксперименте отображена на рисунке 3.4.

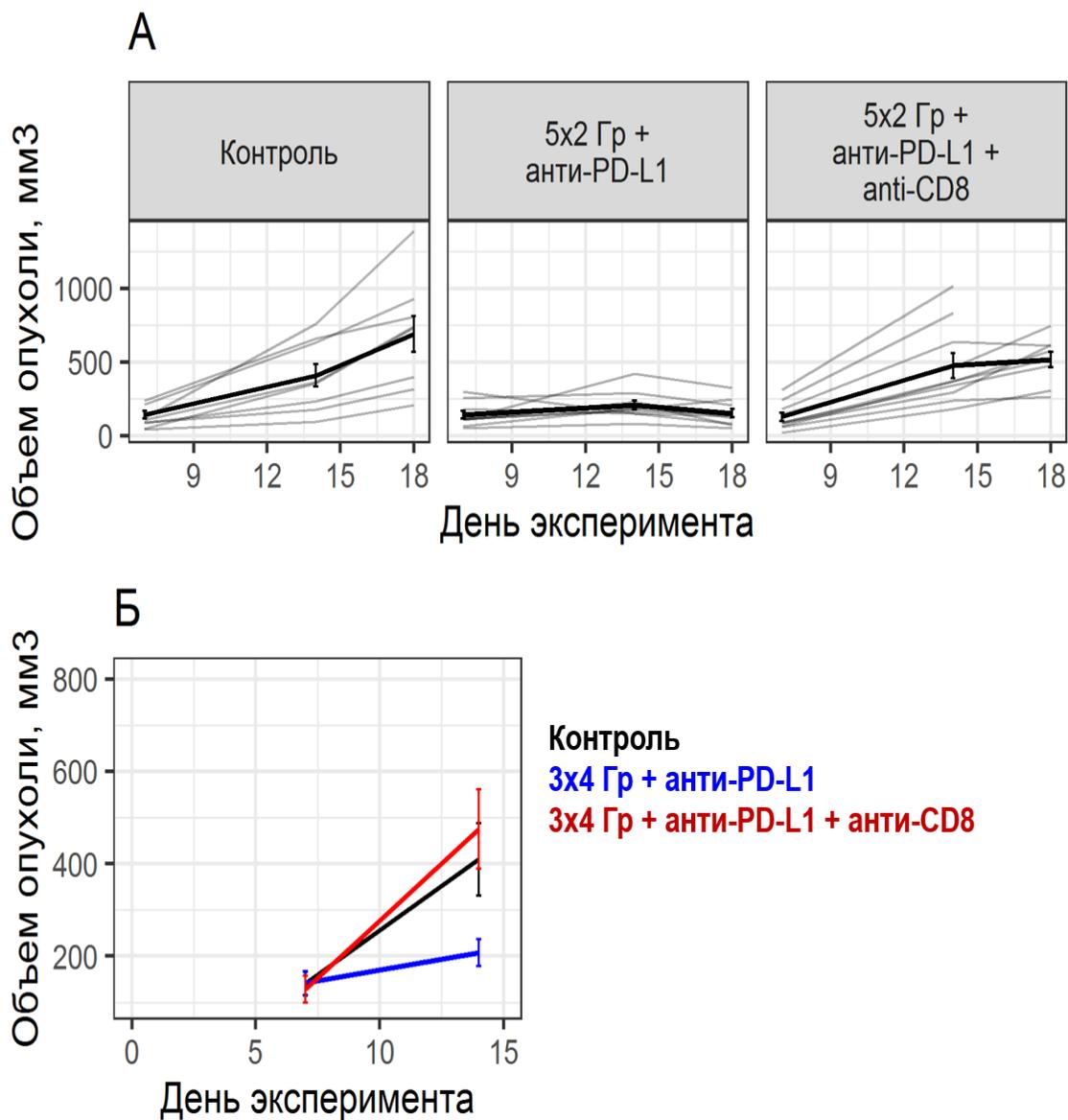


Рисунок 3.4 – Динамика роста опухоли в эксперименте 3. На графиках отражены индивидуальные измерения (серые линии); черным цветом отражены средние значения динамики роста опухоли в рассматриваемых экспериментах, планки погрешностей отражают стандартные ошибки

Результаты эксперимента представлены в таблице 3.3.

Таблица 3.3 – Противоопухолевая активность рассматриваемых терапий на 14 день эксперимента

Лечение	Количество животных	Среднее значение TV $\pm$ CO, мм <sup>3</sup>	TGI, %
Контроль	10	409,4 $\pm$ 77,7	0
5x2 Гр + анти-PD-1/PD-L1, режим 1	10	207,5 $\pm$ 29,2*	43*
5x2 Гр + анти-PD-1/PD-L1, режим 1 + CD8-специфичное антитело	10	475,1 $\pm$ 85,6	-23,9

Примечание. CO – стандартное отклонение. TGI – индекс ингибирования роста опухоли по отношению к контролю, TV – объем опухоли. Значимость различий оценивалась с использованием U-критерия Манна-Уитни (\* –  $p < 0,05$ ).

Отсутствие статистически значимой разницы в размере опухоли на 14 день эксперимента между контрольной группой и группой, получающей комбинированную радио- и иммунотерапию в сочетании с анти-CD8 антителом, (TGI = -23,9%,  $p = 0,51$ ) говорит о полной потере эффективности лечения при возникновении иммунодефицитных состояний и указывает на ведущую роль адаптивного иммунитета в противоопухолевой активности рассматриваемого лечения (таблица 3.3, рисунок 3.4).

\*\*\*

На основании представленных экспериментальных данных можно сделать вывод о наличии синергетических эффектов между радио- и иммунотерапевтическими воздействиями. Изучение различных факторов, определяющих эффективность лечения, показало, что наличие иммунодефицитных

состояний и увеличение временного интервала между радио- и иммунотерапией негативно влияют на успех лечения. В то же время полученные данные не позволяют сделать однозначный вывод о наиболее эффективном режиме фракционирования облучения при комбинировании с иммунотерапией, так как все изученные схемы показали сопоставимые результаты.

## ГЛАВА 4. ОПИСАНИЕ РАЗРАБОТАННОЙ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ИММУННОГО ОТВЕТА

Как было отмечено ранее, существует сложность количественной оценки эффективности комбинированной радио- и иммунотерапии ввиду применения различных режимов фракционирования облучения. Для решения данной проблемы нами была разработана математическая модель, позволяющая количественно охарактеризовать противоопухолевую активность лечения на основании полученных экспериментальных данных, исследовать механизмы синергии и МИВ в ответе на терапию и идентифицировать наиболее эффективную терапевтическую схему.

### 4.1. Финальная структура модели

Предложенная математическая модель представляет собой систему ОДУ и состоит из элементов, описывающих динамику ключевых компонентов противоопухолевого иммунного ответа в соответствии с концепцией ИО цикла, изложенной в разделе 1.1.1 (рисунок 4.1А): иммуногенная гибель опухолевых клеток ( $TCD$ ) приводит к высвобождению опухолевых антигенов ( $Ag_{sys}$ ) и активации APC ( $DC_m$ ); презентация антигена на поверхности APC сопровождается миграцией предшественников  $T_{eff}$  ( $nT_{eff}$ ) и их пролиферацией в зрелые  $T_{eff}$  ( $dT_{eff}$ ), данный процесс определяется функцией иммунной активации ( $IAR$ ), которая ингибируется различными популяциями иммуносупрессивных клеток ( $ISC$ ) а также PD-L1/PD-1 механизмом ( $PD-L1$ ). Для описания динамики антитела в месте введения ( $\alpha PD-(L)I_{ad}$ ) и плазме крове ( $\alpha PD-(L)I_c$ ) используется однокамерная модель с внесосудистым введением (рисунок 4.1Б). Описание эффектов радио- ( $RT_{eff}$ ) и иммунотерапии ( $IM_{eff}$ ) на динамику роста опухоли представлено на рисунке 4.1В: ионизирующее излучение ( $RT$ ) переводит пролиферирующие популяции опухолевых клеток ( $TV$ ) в неактивное

состояние ( $TV_d$ ), за счет образования двуцепочечных разрывов ДНК ( $DSB$ ) и других механизмов, в тоже время зрелые  $T_{eff}$  вызывают лизис опухолевых клеток.

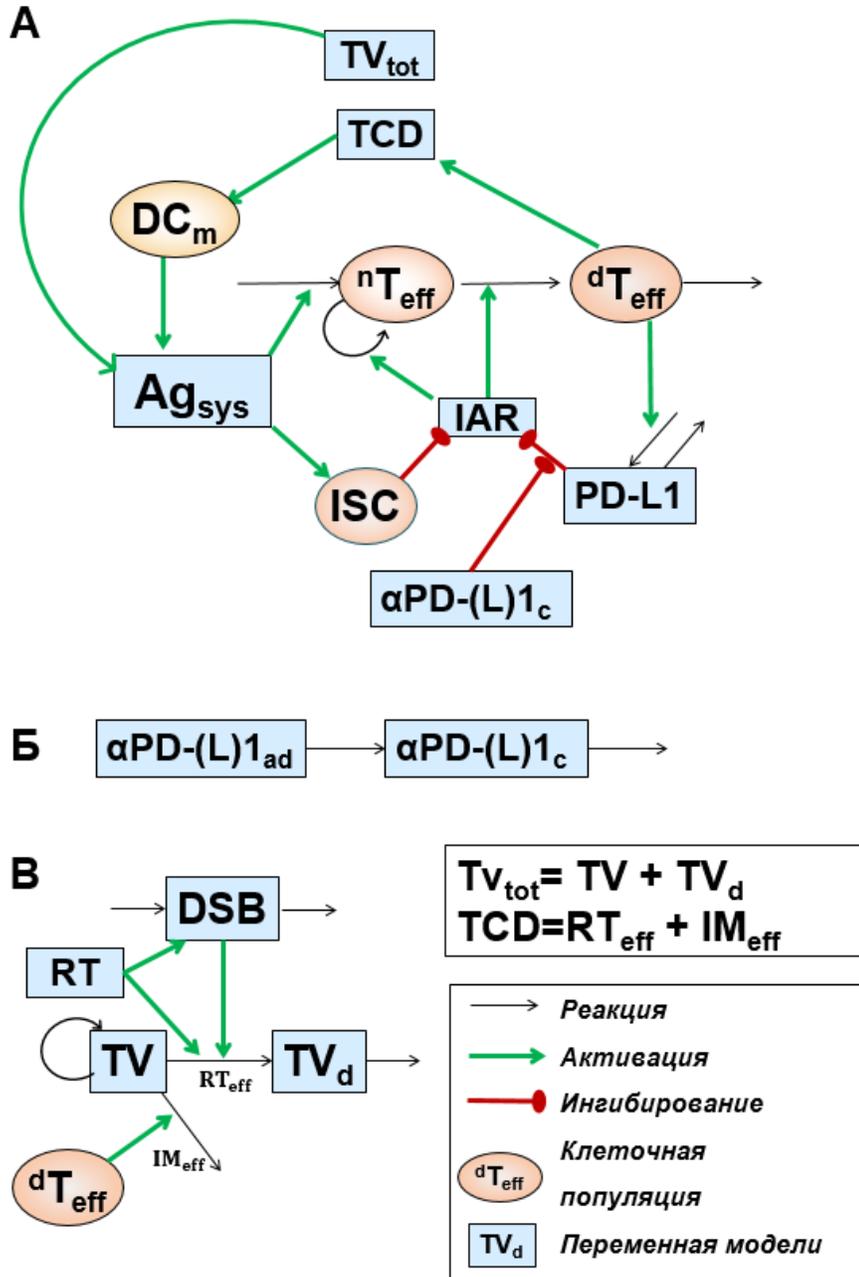


Рисунок 4.1 – Структурные элементы модели. (А) Описание противоопухолевого иммунного ответа; (Б) Фармакокинетическая модель PD-1L/PD-1 антител; (В) Описание эффектов радио- и иммунотерапии на динамику роста опухоли

Более детальное описание отображенных на рисунке 4.1 процессов и взаимодействий будет изложено в следующих разделах.

#### 4.1.1. Описание динамики роста опухоли

Для описания динамики роста опухоли  $TV$  была использована предложенная ранее логистическая модель, представленная в таблице 1.1; влияние радиотерапии и клеток иммунной системы на гибель опухолевых клеток было учтено посредством включения дополнительных компонентов  $IM_{eff}$  и  $RT_{eff}$  в уравнение (ур. 4.1):

$$\frac{dTV}{dt} = \left( r \cdot \left( 1 - \frac{TV}{TV_{max}} \right) - IM_{eff} - RT_{eff} - d_0 \right) \cdot TV, \quad (4.1)$$

где  $r$  и  $d_0$  – параметры, характеризующие динамику роста и гибели опухоли без учета терапевтических воздействий,  $TV_{max}$  – максимальный объем опухоли.

#### 4.1.2. Описание эффектов иммунотерапии

Ключевым механизмом действия различных иммунотерапевтических воздействий является увеличение уровня функционально активных  $T_{eff}$ , способных осуществлять лизис опухолевых клеток. Таким образом, компонент  $IM_{eff}$  можно определить через ур. 4.2.

$$IM_{eff} = e \cdot {}^d T_{eff}, \quad (4.2)$$

где  $e$  – параметр, характеризующий цитотоксическую активность  $T_{eff}$ ,  ${}^d T_{eff}$  – уровень функционально активных  $T_{eff}$  в сайте опухоли.

Как было отмечено в главе 1.1.1, накопление  $T_{eff}$  является многостадийным процессом, первым этапом которого является иммуногенная гибель клеток опухоли [16]. Данный процесс складывается из базовой скорости гибели клеток опухоли, а также токсических эффектов рассматриваемых терапевтических воздействий (ур. 4.3):

$$TCD = IM_{eff} + RT_{eff} + d_0, \quad (4.3)$$

где TCD – функция скорости гибели клеток опухоли.

Иммуногенная гибель клеток опухоли сопровождается активацией миграции APC в сайт опухоли и последующим усилением процесса антигенпрезентации. В рамках работы были изучены различные формы функциональной зависимости между скоростью гибели опухоли и уровнем APC (ур. 4.4-4.6), однако наиболее точное воспроизведение экспериментальных данных, оцененное по критерию ФМП, было получено при использовании уравнения Хилла (ур. 4.6), которое было включено в итоговую версию модели (таблица 4.1).

Таблица 4.1 – Определение характера функциональной зависимости между скоростью иммуногенной гибели клеток опухоли и уровнем APC в сайте опухоли

Функциональная зависимость	Уравнение	Значение ФМП
Линейная	$DC_{mat} = TCD \quad (4.4)$	4397
Ур. Михаэлис-Ментена	$DC_{mat} = \frac{TCD}{TCD + K_{tcd}} \quad (4.5)$	4420
Ур. Хилла	$DC_m = \frac{TCD^2}{TCD^2 + K_{TCD}^2} \quad (4.6)$	4388

Примечание.  $DC_m$  – количество APC в сайте опухоли,  $K_{TCD}$  – параметр, характеризующий чувствительность APC инфильтрации к иммуногенной гибели клеток опухоли, ФМП – функция максимального правдоподобия.

Количество представленного антигена предполагалось линейно-зависимым от размера опухоли и уровня APC (ур. 4.7):

$$Ag_{sys} = DC_m \cdot TV_{tot}, \quad (4.7)$$

где  $Ag_{sys}$  – количество презентируемого на поверхности APC антигена,  $TV_{tot}$  – общий объем опухоли, складывающийся из объема пролиферирующих опухолевых клеток (TV) и неактивных клеточных клонов с радиоиндуцированными повреждениями ДНК ( $TV_d$ ) (ур. 4.8):

$$TV_{\text{tot}} = TV + TV_d \quad (4.8)$$

Распознавание антигена на поверхности APC лимфоцитами сопровождается активацией процесса миграции последних в сайт опухоли с последующей их пролиферацией и дифференцировкой в зрелые формы Teff. Было показано, что в процессе дифференцировки снижается пролиферативный потенциал лимфоцитов, однако увеличивается их цитотоксическая активность в отношении клеток опухоли [147]. Для описания данного факта в модели были рассмотрены две формы лимфоцитов – долгоживущие предшественники Teff ( ${}^n\text{Teff}$ ), обладающие высоким пролиферативным потенциалом, способные к дифференциации в зрелые, функционально активные, короткоживущие формы Teff ( ${}^d\text{Teff}$ ). Таким образом, динамика данных клеточных популяций определяется скоростями антиген-зависимой миграции предшественников лимфоцитов в сайт опухоли, их дифференцировки в зрелые формы и апоптоза данных клеточных популяций (ур. 4.9, 4.10):

$$\frac{d{}^n\text{Teff}}{dt} = k_{LN} \cdot \frac{Ag_{\text{sys}}}{Ag_{\text{sys}} + S_L} + IAR \cdot {}^n\text{Teff} \cdot (k_{\text{pro}} - k_{\text{dif}}) - k_{\text{el}} \cdot {}^n\text{Teff} \quad (4.9),$$

$$\frac{d{}^d\text{Teff}}{dt} = IAR \cdot {}^n\text{Teff} - k_{\text{apo}} \cdot {}^d\text{Teff}, \quad (4.10)$$

где  $k_{LN}$  и  $S_L$  параметры, определяющие максимальную скорость миграции  ${}^n\text{Teff}$  и чувствительность процесса миграции к уровню антигена,  $k_{\text{el}}$  и  $k_{\text{apo}}$  – константы скорости гибели  ${}^n\text{Teff}$  и  ${}^d\text{Teff}$ , соответственно;  $k_{\text{pro}}$  и  $k_{\text{dif}}$  – константы скорости пролиферации и дифференцировки предшественников Teff; IAR является функцией, определяющей влияние иммуносупрессивных компонентов на экспансию Teff, принимающая значения в интервале [0;1].

Так как иммуносупрессия является следствием совокупности множества различных механизмов, их детальное рассмотрение может привести к неопределенности в оценке модельных параметров. Для решения данной проблемы был использован полуэмпирический подход: все иммуносупрессивные компоненты

были разделены на PD-1/PD-L1-опосредованные и PD-1/PD-L1-независимые (ур. 4.11):

$$IAR = (1 - PDL1/PDL1_{A_{\text{beff}}}) \cdot 1/ISC, \quad (4.11)$$

где PDL1 и ISC являются функциями с областями значений  $[0;1]$ , отражающими вклад PD-1/PD-L1-опосредованных и PD-1/PD-L1-независимых механизмов в иммуносупрессию, функция  $PDL1_{A_{\text{beff}}}$  отражает эффект анти-PD-1/PD-L1 терапии на PD-1/PD-L1-опосредованную иммуносупрессию.

К PD-1/PD-L1-независимым компонентам иммуносупрессии можно отнести рассмотренные подробно в главе 1.1.1 популяции иммунных клеток, которые наравне с предшественниками  $T_{\text{eff}}$  инфильтрируют опухоль, однако, подвергаясь альтернативной активации под действием МОО, приобретают иммуносупрессивный фенотип, таким образом, их концентрация пропорциональна количеству антигена (ур. 4.12):

$$ISC = 1 + \frac{A_{\text{g}_{\text{sys}}}}{sR}, \quad (4.12)$$

где  $sR$  – параметр, характеризующий чувствительность миграции иммуносупрессивных клеток в сайт опухоли к уровню антигена.

Было показано, что одним из ключевых триггеров активации PD-1/PD-L1 иммуносупрессивного механизма является  $INF\gamma$ , продуцируемый активными  $T_{\text{eff}}$  [62]; таким образом, в модели динамика PDL1 определяется уровнем функционально активных  $T_{\text{eff}}$  (ур. 4.13):

$$\frac{dPDL1}{dt} = k_{PDL} \cdot \left( \frac{d_{T_{\text{eff}}}}{d_{T_{\text{eff}}+K_{PDL}}} - PDL1 \right), \quad (4.13)$$

где PDL1 – вклад PD-1/PD-L1-опосредованного механизма в иммуносупрессию,  $K_{PDL}$  – чувствительность активации PD-1/PD-L1 к уровню  $d_{T_{\text{eff}}}$ ,  $k_{PDL}$  – константа, характеризующая скорости накопления и элиминации PD-1/PD-L1.

### 4.1.3. Описание фармакокинетического профиля анти-PD-L1 антитела и его связывания с мишенью

Для воспроизведения фармакокинетического профиля препарата была использована однокамерная модель с внесосудистым введением [142] (ур. 4.14, 4.15):

$$\frac{dmAb_{ad}}{dt} = -kabs_{mAb} \cdot mAb \quad (4.14),$$

$$\frac{dmAb_c}{dt} = kabs_{mAb} \cdot mAb_{ad} - kel_{mAb} \cdot mAb_c, \quad (4.15)$$

где  $mAb_{ad}$  и  $mAb_c$  – количества антител в интроперитонеальном и центральном компартментах,  $kabs_{mAb}$  и  $kel_{mAb}$  – константы абсорбции и элиминации антител соответственно.

Расчет концентрации антител проводился с использованием ур. 4.16:

$$mAb = \frac{mAb_c \cdot 10^6}{Vd_{mAb} \cdot MW_{mAb}}, \quad (4.16)$$

где  $mAb$  – концентрация антитела в центральном компартменте,  $Vd_{mAb}$  и  $MW_{mAb}$  – объем распределения и молярная масса антитела соответственно.

Степень ингибирования PD-1/PD-L1-опосредованного иммуносупрессивного механизма под действием рассматриваемых антител рассчитывалась в модели с использованием ур. 4.17:

$$PDL1_{Abeff} = 1 + \frac{mAb}{Kd_{mAb}}, \quad (4.17)$$

где  $Kd_{mAb}$  – константа диссоциации антител к PD-1/PD-L1.

### 4.1.4. Описание эффектов радиотерапии

Для описания компонента  $RT_{eff}$  была использована модификация рассматриваемой в главе 1.4.2 ЛКМ, предложенная Ватанабэ [148]. В то время, как в классической ЛКМ предполагается, что радиоиндуцированные двуцепочечные разрывы ДНК сопровождаются активацией процессов клеточного апоптоза [105], в

версии Ватанабэ вводится дополнительный компонент, отражающий популяцию облученных опухолевых клеток, находящихся в преапоптотическом состоянии и не способных к пролиферации (ур. 4.18 -4.20):

$$\frac{dU}{dt} = \delta \cdot R - \left(\frac{U}{\tau}\right) \quad (4.18),$$

$$RT_{\text{eff}} = (\alpha \cdot R - \kappa \cdot U^2) \quad (4.19),$$

$$\frac{dTV_d}{dt} = (\alpha \cdot R - \kappa \cdot U^2) \cdot TV - \mu \cdot TV_d, \quad (4.20)$$

где  $\delta$ ,  $\tau$ ,  $\alpha$  и  $\kappa$  – параметры модели,  $U$  – количество двуцепочечных повреждений ДНК,  $R$  – доза излучения,  $TV_d$  – количество неактивных клеток,  $\mu$  – скорость апоптоза неактивных клеток опухоли.

## 4.2. Результаты верификации модели

Итоговая модель включает 25 параметров, 17 из которых были определены из литературных данных или зафиксированы на физиологически обоснованных значениях, 8 – верифицированы в ПО Monolix® на основании экспериментальных данных, приведенных в главе 3.

### 4.2.1. Определение параметров на основании литературных данных

Параметры, характеризующие фармакокинетические свойства антител, были оценены на основании фармакокинетических профилей мышинных антител, полученных ранее в доклинических экспериментах [149]. Константы пролиферации, дифференцировки и апоптоза  $T_{\text{eff}}$  а также их предшественников были определены на основании периода полужизни клеток, продолжительности клеточного цикла и уровня данных клеточных популяций в сайте опухоли [150; 151]. Параметры, определяющие базовую скорость роста опухоли без учета радио- и иммунотерапии, были оценены на основании динамики опухоли СТ-26 у мышей с деплецией

лимфоцитов, вызванной приемом CD8- и CD-4-специфичных антител [152]. Параметры, характеризующие цитотоксические эффекты ионизирующего излучения, были оценены ранее в рамках разработки ЛКМ. Параметр, описывающий цитотоксическую активность  $dT_{eff}$  в отношении клеток опухоли был зафиксирован на основании данных об уровне  $dT_{eff}$ , обеспечивающих контроль роста опухоли после облучения [62; 153]. Константа активации PD-1/PD-L1-опосредованного иммуносупрессивного механизма была зафиксирована на значении, обеспечивающим достижение стационарного уровня активации данного механизма в течение 24 часов на основании *in vitro* данных [154].

Константа спонтанной гибели клеток опухоли была зафиксирована на значении  $\ll$  константы пролиферации, на основании того факта, что доля опухолевых клеток, находящихся в апоптотическом состоянии в сингенных мышинных опухолях является незначительной [153]. Параметр  $\kappa$  был выражен через параметры ЛКМ  $\delta$ ,  $\tau$  и  $\alpha$ : в работе Сачса [155] путем аналитического решения ЛКМ было получено уравнение, позволяющее расчет константы скорости репарации двуцепочечных радиоиндуцированных разрывов ДНК  $\beta$  (ур. 4.21):

$$\beta = \delta^2 \cdot \kappa \cdot \frac{\tau}{2} \quad (4.21)$$

Исходя из ранее установленного соотношения параметров радиоиндуцированного разрыва и репарации ДНК в клетках опухоли  $\alpha/\beta = 10$  [156]

и ур. 4.22 параметр  $\kappa$  был выражен с использованием ур. 4.22:

$$\kappa = \frac{2 \cdot (\alpha/10)}{\delta^2 \cdot \tau} \quad (4.22)$$

Значения параметров, определенных на основании литературных данных, приведены в таблице 4.2.

Таблица 4.2 – Параметры модели, установленные на основании литературных данных

Параметр	Описание	Значение	Единица измерения	Источник
Параметры динамики роста опухоли				
R	Скорость роста опухоли	0,4	сут <sup>-1</sup>	[152]
TV <sub>max</sub>	Максимальный размер опухоли	2500	мм <sup>3</sup>	[152]
d <sub>0</sub>	Базовая скорость гибели опухоли	0,01	сут <sup>-1</sup>	[153]
Параметры Т-клеточного иммунитета				
k <sub>pro</sub>	Скорость пролиферации <sup>n</sup> Teff	3,0	сут <sup>-1</sup>	[150]
k <sub>dif</sub>	Скорость дифференцировки <sup>n</sup> Teff	3,2	сут <sup>-1</sup>	[151]
k <sub>el</sub>	Скорость гибели <sup>n</sup> Teff	0,2	сут <sup>-1</sup>	[150]
k <sub>apo</sub>	Скорость гибели <sup>d</sup> Teff	2,0	сут <sup>-1</sup>	[150]
E	Цитотоксическая активность <sup>d</sup> Teff	0,001	сут <sup>-1</sup> клетки <sup>-1</sup>	[62; 153]
K <sub>PDL</sub>	Скорость активации PD-1/PD-L1-опосредованного механизма	1	сут <sup>-1</sup>	[154]
Параметры фармакокинетики и связывания антитела с мишенью				
k <sub>abs<sub>mAb</sub></sub>	Скорость абсорбции антитела из в/б пространства	8,0	сут <sup>-1</sup>	[149]
k <sub>el<sub>mAb</sub></sub>	Скорость элиминации антитела	0,15	сут <sup>-1</sup>	[149]
V <sub>d<sub>mAb</sub></sub>	Объем распределения антитела	0,003	л	[149]
MW <sub>mAb</sub>	Молярная масса антитела	15000	г · моль <sup>-1</sup>	[149]
K <sub>d<sub>mAb</sub></sub>	Константа диссоциации комплекса антитело-мишень	30	нмоль · л <sup>-1</sup>	[157]
Параметры, характеризующие эффект радиотерапии				

$\Delta$	Количество двуцепочечных разрывов ДНК под действием 1 Гр в одной клетке	19	$\text{Гр}^{-1}$	[158]
T	Скорость репарации двуцепочечных разрывов ДНК	0,02	$\text{сут}^{-1}$	[156]
M	Скорость апоптоза неактивных клеток опухоли содержащих двуцепочечные разрывы ДНК	0,1725	$\text{сут}^{-1}$	[148]

#### 4.2.2. Верификация параметров модели на основании экспериментальных данных

Параметры  $k_{LN}$  и  $s_L$ , характеризующие скорость миграции предшественников  $T_{eff}$  в сайт опухоли; (2) параметры  $s_R$  и  $K_{PDL}$ , определяющие ингибирующее влияние различных иммуносупрессивных механизмов на  $T_{eff}$ ; (3) параметр  $\alpha$ , определяющий линейный компонент цитотоксического эффекта радиотерапии, а также (4) параметры  $a$  и  $b$  модели комбинированной ошибки были оценены исходя из экспериментальных данных.

Особенностью методологии НМСЭ является необходимость определения не только популяционных значений параметров, но также и коэффициентов, характеризующих МИВ в ответе на терапию. В рамках данной задачи на основании литературных данных были сформулированы гипотезы о роли различных процессов в наблюдаемой МИВ в ответе на терапию, которые были протестированы путем перебора версий модели, включающих вариабельность в значениях тех или иных параметров. Такие параметры  $p_i$  предполагались случайными, логнормально распределенными величинами (ур. 4.23):

$$p_i = p \cdot \exp(\eta_i), \quad (4.23)$$

где  $p$  – фиксированное значение параметра,  $\eta_i$  – случайная нормально распределенная величина со средним значением 0 и стандартным отклонением  $\Omega_p$ .

Результаты перебора моделей представлены в таблице 4.3.

Таблица 4.3 – ФМП, рассчитанная для вариантов моделей, предполагающих наличие вариабельности в различных параметрах

Параметр	Гипотетический механизм МИВ	ФМП
$k_{LN}$	Низкая иммуногенность опухоли; создание барьеров для инфильтрации иммунных клеток в сайт опухоли	4388
$s_L$		4318
$E$	Цитотоксическая активность $T_{eff}$	4393
$s_R$	Выраженность PD-L1/PD-1 независимых иммуносупрессивных механизмов (адаптивная иммунорезистентность)	4447
$R$	Различная пролиферативная активность клеток опухоли	4374

МИВ – межиндивидуальная вариабельность, ФМП – функция максимального правдоподобия.

Как следует из таблицы 4.3, наиболее точное воспроизведение экспериментальных данных было получено в версии модели, предполагающей наличие индивидуальных различий в параметре  $s_L$ , характеризующим скорость миграции предшественников  $T_{eff}$  в сайт опухоли. На основании данных расчетов коэффициент МИВ в параметре  $s_L$  был включен в модель.

Значения установленных на основании экспериментальных данных параметров модели приведены в таблице 4.4. Исходя из представленной информации, можно сделать вывод о том, что предложенная модель является идентифицируемой (ошибки определения параметров составляют менее 50%) и может быть использована для количественного определения биологических эффектов рассматриваемых терапий.

Таблица 4.4 – Параметры модели, оцененные на основании экспериментальных данных

Параметр	Описание	Значение	Единицы измерения	Ошибка оцененного значения параметра, %
$k_{LN}$	Максимальная скорость миграции $nTeff$ в сайт опухоли	279	Клетки $\cdot$ сут <sup>-1</sup>	8
$s_L$	Чувствительность миграции $nTeff$ к уровню антигена	8,89	-	13
$\Omega_{s_L}$	Параметр, характеризующий МИВ в параметре $s_L$	0,696	-	10
$s_R$	Чувствительность PD-1/PD-L1-независимой иммуносупрессии к уровню Ag	30,5	-	12
$K_{PDL}$	Чувствительность PD-1/PD-L1-опосредованной иммуносупрессии к уровню $dTeff$	478	клетки	23
A	Линейный компонент ЛКМ	0,146	$\Gamma p^{-1}$	9
a	Постоянный компонент модели ошибки	21,2	$mm^3$	13
b	Пропорциональный компонент модели ошибки	0,176	-	10

### 4.3. Результаты оценки качества финальной модели

Воспроизведение экспериментальных данных, использованных для оценки параметров модели, представлено на рисунке 4.2.

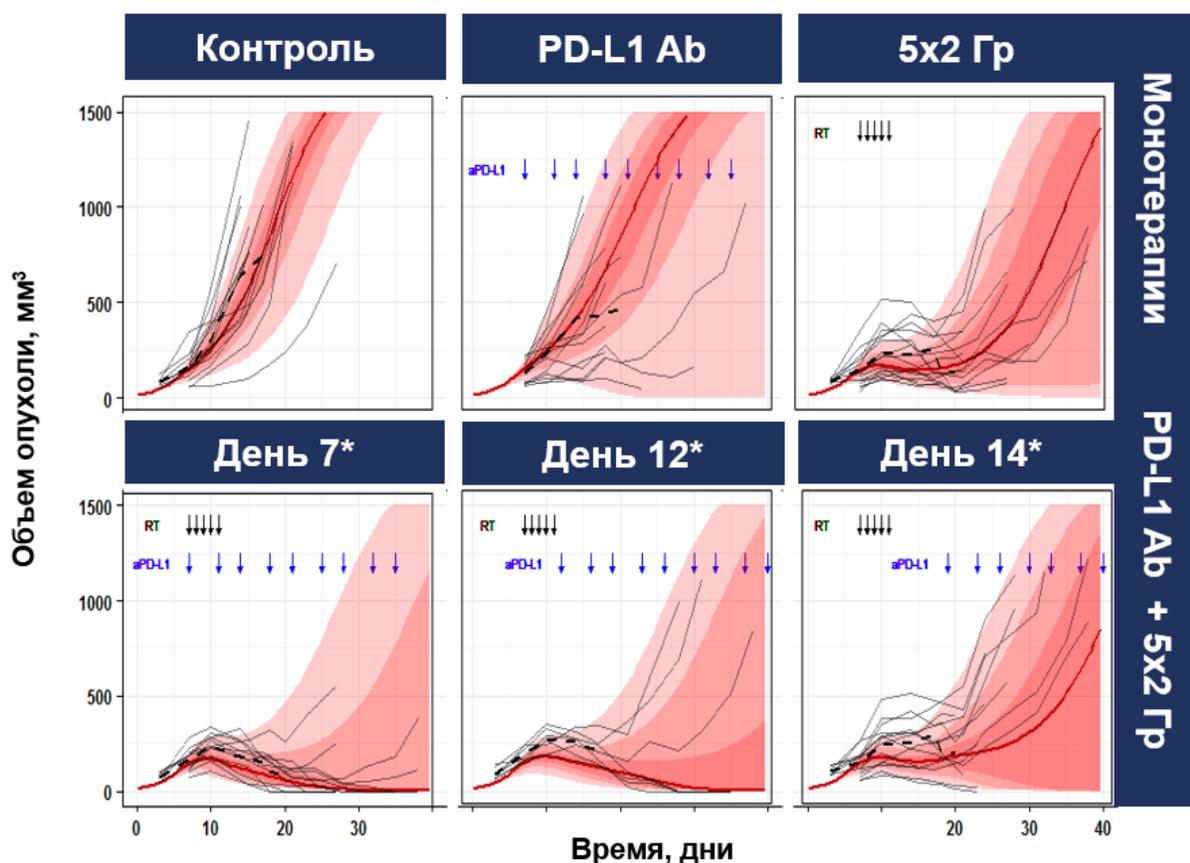


Рисунок 4.2 – Воспроизведение данных первой группы экспериментов в модели. Данные экспериментов отмечены черным цветом: сплошные линии отражают индивидуальную динамику роста опухоли, медиана измерений обозначена пунктирной кривой; модельные расчеты показаны красным цветом: линия отражает медиану расчетов, области – 30-, 60 и 90-% ДИ расчетов

Рассчитанные в модели медианы и ДИ согласуются с экспериментальными наблюдениями (рисунок 4.2). Результаты расчетов указывают на невысокую вероятность полной регрессии опухоли в группах лечения, получающих моно- радио-

и иммунотерапии. В то же время в группе животных, получающих иммунотерапию на фоне облучения, прогрессия заболевания наблюдается лишь у 15% животных. При увеличении временного интервала между терапиями, наблюдается смещение рассчитанных ДИ в сторону более высоких значений, что говорит о снижении эффективности терапии.

Результаты графического анализа модели представлены на рисунке 4.3. Воспроизведение данных индивидуальной динамики роста опухоли представлено в Приложении А.

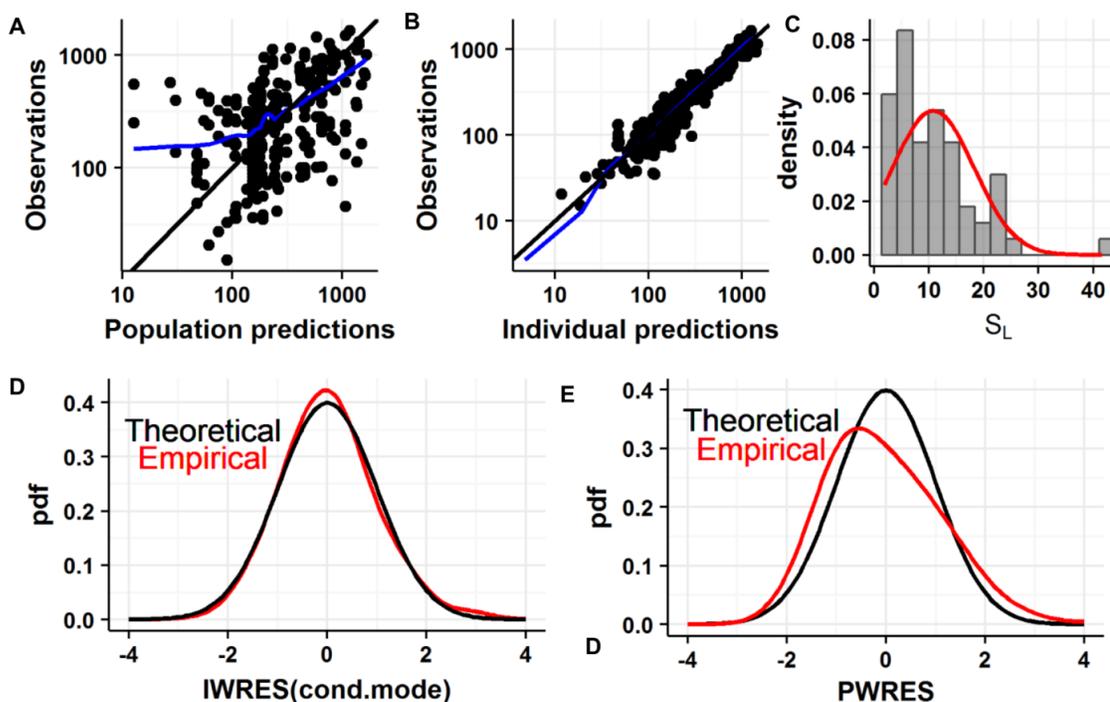


Рисунок 4.3 – Диагностические графики: (А) Популяционные и (Б) индивидуальные расчеты против экспериментальных наблюдений; точки соответствуют индивидуальным наблюдениям, черная линия отражает идеальное соответствие между экспериментальными данными и модельными расчетами, эмпирический тренд между величинами показан синей кривой; (В) Оцененное распределение и гистограмма индивидуально-подобранных значений параметра  $s_L$ ; (Г) Индивидуальные и; (Д) Популяционные взвешенные остатки

Графики модельных расчетов против экспериментальных наблюдений показывают, что модель позволяет несмещенное воспроизведение данных эксперимента; при этом более точное воспроизведение наблюдений может быть получено при использовании индивидуально-подобранных значений параметра  $sL$  (рисунок 4.3А, Б, Приложение А). Распределение оцененных значений параметра  $sL$  близко к логнормальному (рисунок 4.3В), а распределение индивидуальных и популяционных взвешенных остатков – к нормальному (рисунок 4.3Г, Д), что говорит о правомерности использованных в статистической составляющей модели допущений (глава 2.2.2.1).

#### **4.4. Валидация модели**

Результаты валидации модели с использованием независимых данных, полученных во второй и третьей группе экспериментов, представлены на рисунке 4.4. Рассчитанные в модели медианы и ДИ согласуются с наблюдениями рассматриваемых экспериментов. Отмечено, что вероятность полного ответа на моноиммунотерапию составляет менее 15%. Задержка роста опухоли под действием радиолечения зависит от дозы и режима фракционирования излучения – эффективность режима 3x4 Гр была больше по сравнению с режимами 7 Гр (рисунок 4.4) и 5x2 Гр (рисунок 4.2) как при монотерапии, так и в комбинации с PD-L1-специфичным моноклональным антителом. Так, в группе животных, получающих иммунотерапию на фоне радиолечения 3x4 Гр, прогрессия заболевания наблюдалась менее, чем у 15% животных, для режимов 7 Гр и 5x2 Гр данный показатель составил 30%. Деплеция CD8 лимфоцитов приводит к полной потере эффективности терапии (рисунок 4.3Б).

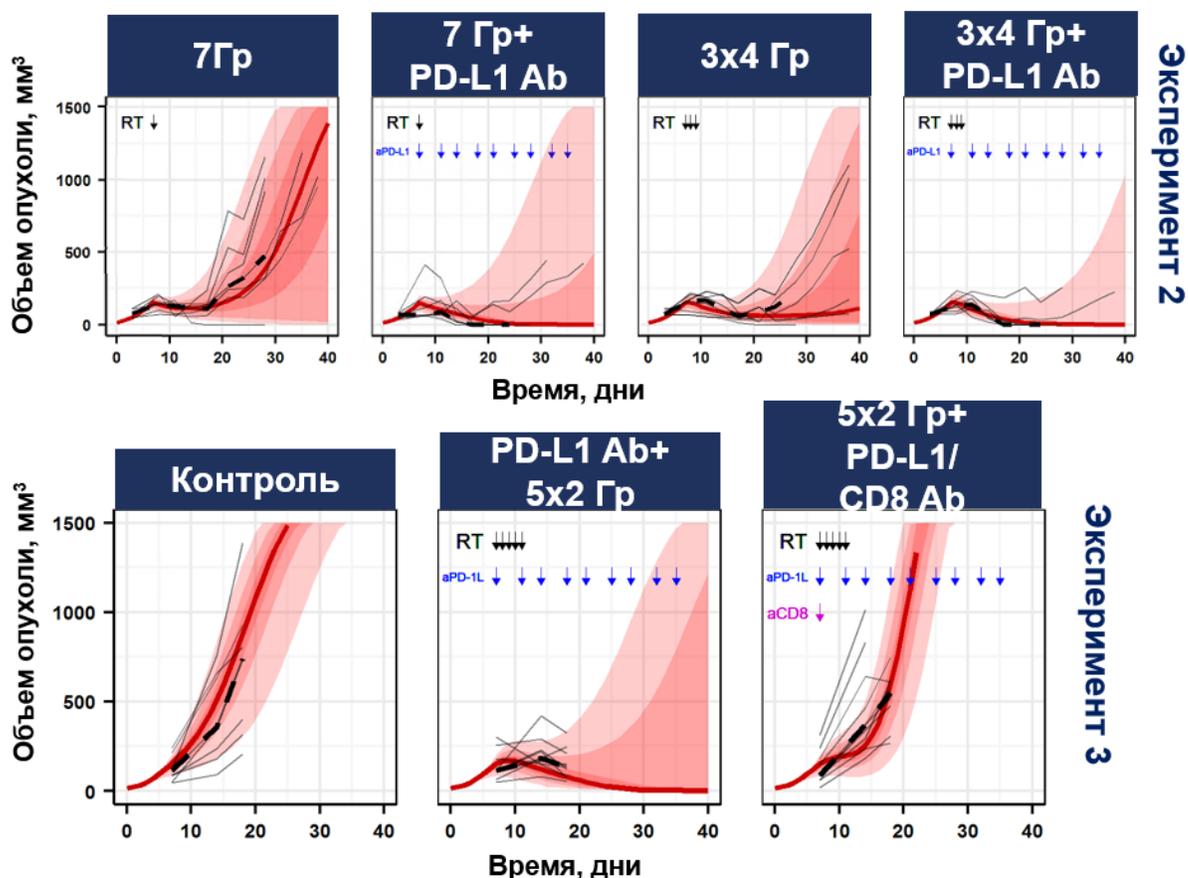


Рисунок 4.4 – Воспроизведение результатов (А) второго и; (Б) третьего экспериментов в предложенной модели. Данные экспериментов отмечены черным цветом: сплошные линии отражают индивидуальную динамику роста опухоли, медиана измерений обозначена пунктирной кривой; модельные расчеты показаны красным цветом: линия отражает медиану расчетов, области – 30-, 60 и 90-% ДИ расчетов

\*\*\*

Резюмируя все вышесказанное, можно сделать вывод о том, что разработанная модель отражает биологические эффекты рассматриваемых терапий, корректно воспроизводит полученные ранее экспериментальные данные на популяционном и индивидуальном уровне и является идентифицируемой. Таким образом, данная модель может быть использована для получения необходимых расчетов.

## **ГЛАВА 5. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОДЕЛИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ И ОПТИМИЗАЦИИ КОМБИНИРОВАННОЙ РАДИО- И ИММУНОТЕРАПИИ**

Разработанная математическая модель была использована для более полного понимания механизмов синергии между радио- и иммунотерапией посредством визуализации динамических изменений различных компонентов противоопухолевого иммунного ответа, изучения механизмов МИВ в ответе на терапию и поиска предиктивных биомаркеров, позволяющих оценить вероятность успеха терапевтического воздействия, а также идентификации оптимальных режимов комбинированного лечения.

### **5.1. Влияние приема PD-1/PD-L1 антител и радиолечения на компоненты противоопухолевого иммунитета**

Изучение взаимодействия между организмом и различными терапевтическими воздействиями является одной из ключевых задач фармакологии. В случае иммунотерапий ключевым объектом исследования является специфический противоопухолевый иммунный ответ, а методом исследования – ИГХ или проточная цитофлуориметрия биопсийного материала [18]. Как было сказано в главе 1.1.3, основным недостатком данного метода является невозможность изучения временной динамики популяций иммунных клеток под действием лечения. Для восполнения недостающей информации был осуществлен расчет динамических изменений ключевых компонентов противоопухолевого иммунного ответа с использованием разработанной математической модели.

Данный расчет осуществлялся путем симуляций популяционных значений соответствующих переменных модели и предполагал использование фиксированных

значений установленных параметров  $\hat{\mu}$  (ур. 2.5). Временной интервал модельных симуляций составлял 0-50 дней. Модельные расчеты осуществлялись для следующих режимов терапий, используемых в первом эксперименте:

(1) группа «Контроль» – два раза в неделю на протяжении 3 недель животные получали в/б инъекции 100 мкл раствора, содержащего 10 мг/кг изотипичного контрольного антитела;

(2) группа «анти-PD-L1» – два раза в неделю на протяжении 3 недель животные получали в/б инъекции 100 мкл раствора, содержащего 10 мг/кг анти-PD-L1-специфичного моноклонального антитела;

(3) группа «5x2 Гр» – животные получали фракционную радиотерапию в режиме 5x2 Гр в комбинации с терапией 1 (одновременный прием);

(4) группа «5x2 Гр + анти-PD-L1, режим 1» – животные получали фракционную радиотерапию в режиме 5x2 Гр в комбинации с терапией 2 (одновременный прием);

Результаты модельных расчетов приведены на рисунке 5.1. Согласно расчетам, в процессе роста опухоли (рисунок 5.1А) происходит временное накопление иммуноактивных клеток, таких как APC и  $^d\text{Teff}$ , максимальный уровень которых достигается примерно на 10 день после пересадки опухоли, после чего он снижается и устанавливается на стационарном значении (рисунок 5.1Б, В), что является следствием активации PD-1/L1-опосредованных и PD-1/PD-L1-независимых иммуносупрессивных компонентов (рисунок 5.1Г, Д). Данный результат согласуется с наблюдениями доклинических экспериментов, в которых был отмечен более высокий уровень Т-лимфоцитов, в том числе и иммуносупрессивных популяций Treg, в биопсийном материале, полученном из опухолей большего размера [84], а также результатами иммунофенотипического исследования образцов солидных опухолей пациентов [159]. Стоит отметить, что такая картина характерна для сингенных моделей с иммунофенотипом “inflamed tumor”, например, RENCA, CT26, MC38; в то же время для низкоиммуногенных опухолей с иммунофенотипом “immune desert”,

таких как В16, инфильтрация иммунными клетками остается слабой на протяжении всего эксперимента [83; 84].

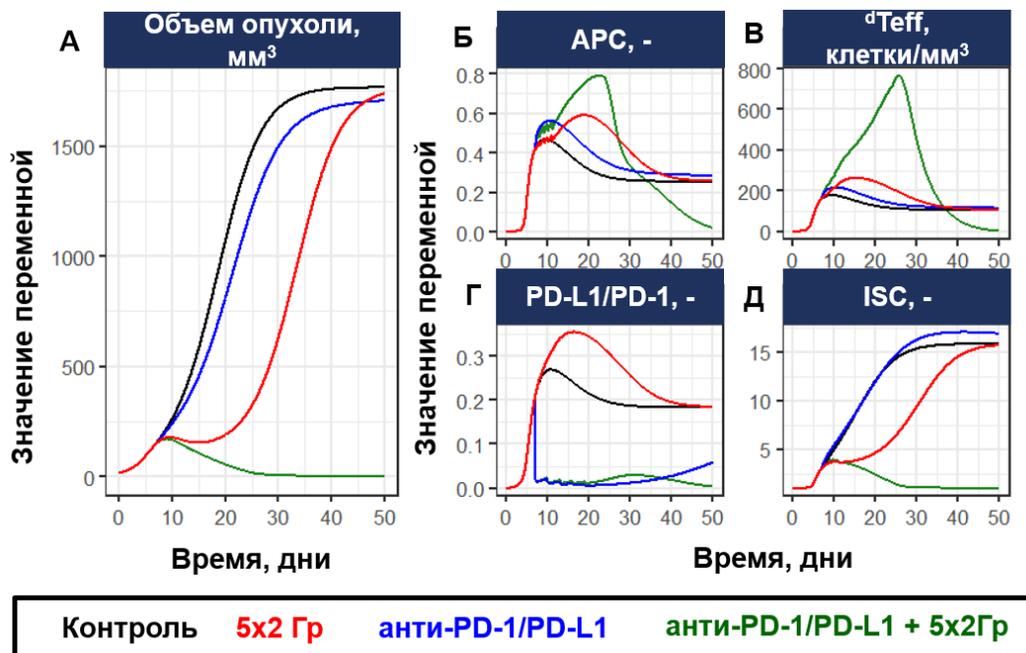


Рисунок 5.1 – Расчет динамических изменений (А) объема опухоли, (Б) APC, (В) <sup>d</sup>Teff, (Г) PD-1/PD-L1 и (Д) ISC в предложенной модели

Радиотерапия оказывает незначительный положительный эффект на уровень Teff (рисунок 5.1В), и сопровождается дополнительной активацией PD-1/PD-L1-механизма (рисунок 5.1Г), ограничивающего экспансию Teff по принципу отрицательной обратной связи. Стоит отметить, что увеличение экспрессии PD-1/PD-L1 в сайте опухоли было показано как для радиотерапии [62], так и для других традиционных видов лечения, например, химиотерапии [160], что указывает на важность данного механизма, как фактора, лимитирующего успех лечения, и является обоснованием рациональности комбинирования PD-1/PD-L1-специфичных антител с радио- и химиотерапиями.

Согласно модельным расчетам, прием PD-1/PD-L1-специфичного антитела в заданном режиме 10 мг/кг 2 раза в неделю обеспечивает полную блокаду

соответствующего механизма (рисунок 5.1Г), однако в данном случае эффективность лечения ограничивается накоплением ИСК (рисунок 5.1Д). Данный механизм был описан Падмани Шарма и коллегами в качестве одной из возможных причин приобретенной иммунотолерантности [63].

При комбинированной терапии наблюдается снижение уровня как PD-1/PD-L1, так и ISC (Рисунок 5.1Г, Д) а также выраженное увеличение числа  $T_{eff}$  (рисунок 5.1В), сопровождающееся полной регрессией опухолевого очага (рисунок 5.1А), вслед за которым наблюдается резолюция иммунного ответа, выражающаяся в снижении уровня всех клеточных популяций.

## **5.2. Изучение механизмов межиндивидуальной вариабельности в ответе на терапию**

Как было отмечено ранее, существует значительная МИВ в эффективности рассматриваемых терапий. В процессе построения модели было установлено, что МИВ в параметре  $sL$ , характеризующим активность миграции предшественников  $T_{eff}$  в сайт опухоли, позволяет наиболее точное воспроизведение экспериментальных данных. Оценённые индивидуальные значения параметра  $sL$  для респондеров и прогрессоров приведены на рисунке 5.2. Как следует из рисунка 5.2А, оцененные индивидуальные значения параметра  $sL$  для респондеров ниже, чем у прогрессоров, что говорит о более активной миграции  $T_{eff}$  в сайт опухоли у данной группы животных. Данный результат может указывать на то, что иммуногенность опухоли является важным фактором успеха иммунотерапий, что согласуется с наблюдениями клинической практики. Так, в исследовании Дунга Ле эффективность анти-PD-1 терапии была выше у пациентов с высокой мутационной нагрузкой на фоне микросателлитной нестабильности по сравнению с пациентами, у которых отсутствовали нарушения в механизмах репарации ДНК [161].

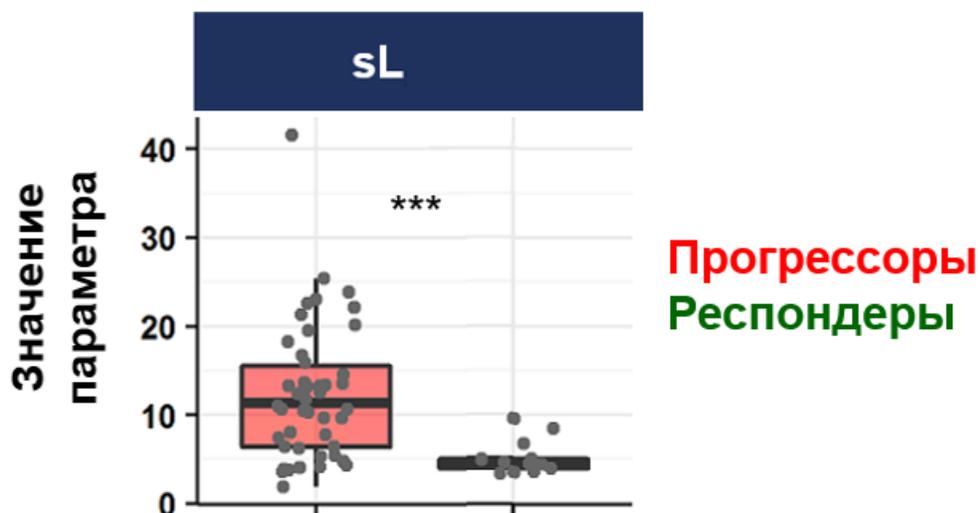


Рисунок 5.2 – Сравнение модельных расчетов параметра  $sL$  у респондеров и прогрессоров. Данные представлены в виде диаграмм размаха, индивидуальные значения обозначены точками. \*\*\* –  $p \leq 0,001$ , оценка значимости различий между группами осуществлялась с использованием U-критерия Манна-Уитни

Для более детального изучения основополагающих механизмов МИВ нами был проведен расчет индивидуальных значений переменных модели для респондеров и прогрессоров в рассматриваемых экспериментах с использованием ур. 2.6. В зависимости от рассчитанного объема опухоли на финальный день эксперимента животные были разделены на респондеров (животные с объемом опухоли менее  $50 \text{ мм}^3$ ) и прогрессоров (животные с объемом опухоли  $50 \text{ мм}^3$  и более), после чего было проведено сравнение рассчитанных компонентов МОО до начала терапии (7 день эксперимента), а также их максимального уровня на фоне лечения.

Результаты расчетов представлены на рисунке 5.3. Согласно модельным расчетам, респондеры характеризуются более высоким уровнем как  $T_{eff}$ , так и их предшественников в опухоли еще до начала терапии (рисунок 5.3А, Б), что согласуется с клиническими наблюдениями. Так, было показано, что тест “Immunoscore”, подразумевающий количественную оценку общего уровня CD3 лимфоцитов и цитотоксических популяций CD8 в сайте опухоли, обладает

прогностическим потенциалом в терапии колоректальной карциномы: высокий уровень данных клеточных популяций ассоциировался с более высокими показателями безрецидивной выживаемости в международных исследованиях, проведенных на 3539 пациентах [162].

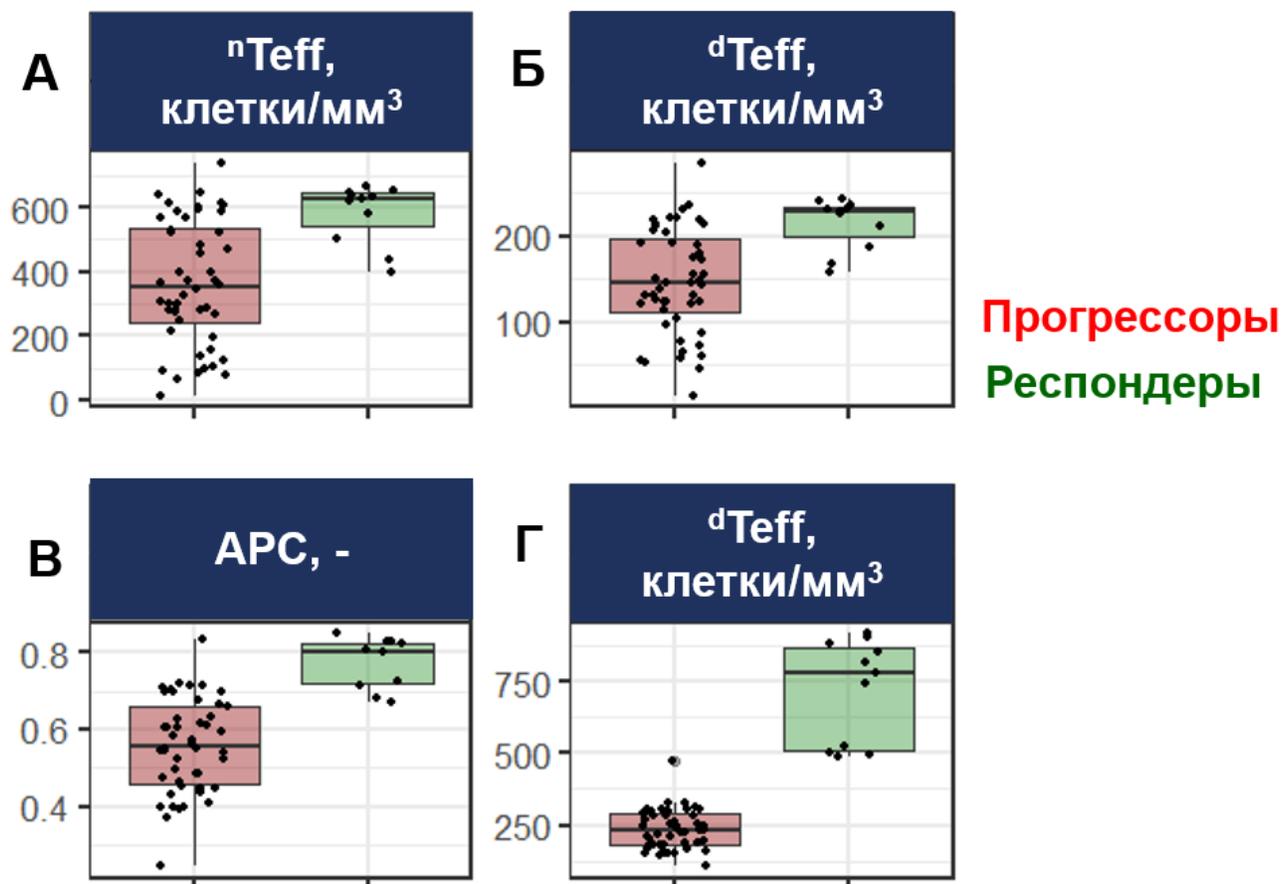


Рисунок 5.3 – Сравнение модельных расчетов (А)  $nTeff$  и (Б)  $dTeff$  на момент начала терапии и максимальных уровней (В) APC и (Г)  $dTeff$  в процессе терапии у респондеров и прогрессоров. Данные представлены в виде диаграмм размаха, индивидуальные значения обозначены точками

Повышенная инфильтрация опухоли иммунными клетками до начала терапии ассоциируется с более выраженным увеличением их числа в процессе лечения (рисунок 5.3Г, Д), что и определяет противоопухолевый эффект терапии; данный

результат согласуется с наблюдениями клинической практики. Так, было показано, что пациенты, отвечающие на иммунотерапию PD-1-специфичными антителами, характеризуются более высокой плотностью CD8 лимфоцитов в биопсийном материале [163]. Стоит отметить, что активация воспалительного процесса в сайте опухоли может привести к увеличению диаметра опухолевого очага в клинической практике, такой феномен является специфичным для иммунотерапий и получил название псевдопрогрессии [164].

### **5.3 Оптимизация комбинированной радиоиммунотерапии посредством проведения виртуальных доклинических исследований**

Одной из важных точек приложения математического моделирования в области фармакологии является экстраполяция эффективности терапевтических воздействий. В рамках данной работы нами была оценена эффективность альтернативных, ранее не изученных в экспериментах режимов облучения в сочетании с приемом анти-PD-1/PD-1L антител, инициированным в различные временные интервалы относительно начала лучевой терапии.

Исследование эффективности альтернативных режимов терапии осуществлялось посредством проведения виртуальных доклинических исследований. Для проведения модельных расчетов динамики роста опухоли из оцененных распределений индивидуальных параметров случайным образом выбирались 100 значений; по итогам модельных расчетов рассчитывался процент респондеров в каждой из групп лечения. Данная процедура повторялась 1000 раз, после чего вычислялась медиана и 90% симуляций.

Следующие режимы терапии были использованы для получения модельных расчетов:

- (1) прием контрольного изотипичного антитела;

(2) прием PD-1/PD-L1-специфичного антитела 2 раза в неделю на протяжении 2 недель, начиная с 3, 5, 7, 12, 19 дня эксперимента;

(3) лучевая терапия, начиная с 7 или 12 день эксперимента (режимы 1x5 Гр, 1x7 Гр, 1x10 Гр, 2x5 Гр, 5x2 Гр);

(4) комбинированная терапия с применением различных режимов радио- и иммунотерапии, приведенных в пунктах 2 и 3, соответственно.

Результаты расчетов представлены на рисунке 5.4.

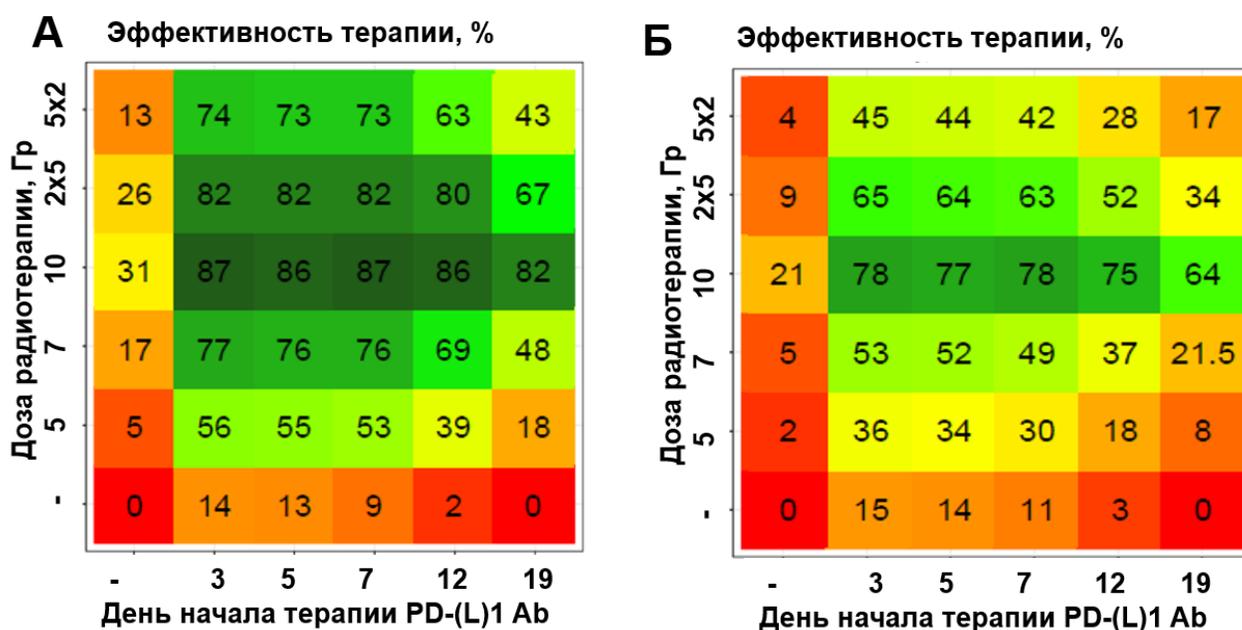


Рисунок 5.4 – Рассчитанная эффективность альтернативных режимов радио-иммуно- и комбинированной терапии при начале облучения на (А) 7 или (Б) 12 день эксперимента. Цифры отражают средний процент респондеров в группах лечения, данный показатель также отображен цветом

Как видно из рисунка 5.4, раннее начало лечения является более эффективным вне зависимости от терапевтического режима. Отмечен дозозависимый противоопухолевый эффект облучения как в виде монотерапии, так и в комбинации с PD-1/PD-L1 антителом. Согласно модельным расчетам, гипофракционные режимы являются менее эффективными по сравнению с однократными высокодозными

режимами в сочетании с иммунотерапией. Подобный эффект может быть следствием более выраженной активации иммунного ответа при увеличении дозы излучения на фракцию при сохранении эквивалентной суммарной дозы. Данный вывод подтверждается экспериментальными работами Амита Лугадэ, в которых отмечен более высокий уровень APC и INF $\gamma$ -продуцирующих лимфоцитов, а также более медленный рост B16 меланомы у мышей, подвергающихся однократному облучению в дозе 15 Гр по сравнению с мышами, получающими облучение в режиме 5x3 Гр [74]. В то же время, стоит отметить, что в текущей работе нами рассматривается ограниченный дозовый диапазон, в то же время более высокодозные режимы могут негативно влиять на функцию иммунной системы [3].

На основании полученных расчетов также можно сделать вывод о важности времени назначения иммунных препаратов на фоне лучевой терапии. Данная гипотеза нашла косвенное подтверждение в результатах, представленных в главе 5.1, в которой было отмечено, что радиоиндуцированная активация иммунного ответа носит временный характер и полностью нивелируется в течение 20 дней после прекращения облучения. В соответствии с этим, наиболее выраженный синергетический эффект радио- и иммунотерапии наблюдается при одновременном назначении лечения, увеличение временного интервала между терапиями негативно сказывается на эффективности терапии.

\*\*\*

Подводя итоги, можно сказать, что проведенные модельные расчеты позволили нам получить более полное понимание воздействия рассматриваемых терапевтических модальностей на МОО, и, таким образом лучше понять механизмы синергии. Так, было показано, что эффективность лечения в случае монотерапий ограничена активацией компенсаторных иммуносупрессивных воздействий по механизму обратной отрицательной связи (феномен приобретенной иммунологической толерантности). В то же время, наблюдаемая в эксперименте низкая эффективность комбинированной терапии и у некоторых животных была объяснена с

позиций феномена исходной иммунотолерантности, характеризующейся недостаточным уровнем опухолеспецифичных лимфоцитов в сайте опухоли на момент начала терапии.

Для увеличения вероятности успеха лечения нами была проведена оптимизация режима комбинированной радио- и иммунотерапии; данная задача предполагала расчет динамики роста опухоли при использовании различных терапевтических схем. На основании модельных расчетов был сделан вывод о том, что одновременное назначение PD-1/PD-L1-специфичных моноклональных антител на фоне радиолечения с использованием высокодозных режимов облучения является наиболее эффективным.

## ГЛАВА 6. МЕТААНАЛИЗ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАДИОИММУНОТЕРАПИИ

В связи с низкой транслируемостью результатов доклинических иммуноонкологических исследований в клиническую практику [165] встает вопрос о подтверждении полученных результатов расчетов данными клинических исследований. В рамках настоящей работы мы провели систематический поиск и метаанализ доступных клинических данных, целью которого являлось изучение эффективности и безопасности комбинированной радио- и иммунотерапии с использованием ИКТИ, а также оценка влияния различных факторов на исходы лечения.

### 6.1. Выбор исследований для метаанализа

В процессе систематического поиска нами было выявлено 446 текстов, из которых 106 составили статьи, 340 – тезисы конференций. После исключения из рассмотрения дубликатов, обзоров и исследований типа «случай-контроль» для дальнейшего анализа было отобрано 84 записи. При более детальном изучении текстов публикаций было исключено 47 исследований, в которых отсутствовала информация об интересующих исходах лечения или исследований, проведенных с участием менее чем 10 пациентов. Одно из исследований [166] было исключено ввиду вовлечения пациентов с большим количеством опухолевых очагов (медиана числа очагов у пациентов составляла более 5), так как рассматриваемое заболевание не относилось к олигометастатическим. По результатам отбора в метаанализ было включено 40 работ [71–73; 76–79; 167–199]. Основные этапы отбора исследований резюмированы на рисунке 6.1.



Рисунок 6.1 – Диаграмма отбора клинических исследований радиоиммунотерапии для проведения метаанализа

Характеристики отобранных исследований приведены в Приложении Б. Как видно из Приложения Б, информация о состоянии пациентов (статусе, количестве очагов и предыдущих линиях терапии) на момент начала лечения была доступна лишь для части исследований, отмечено различие в рассматриваемых характеристиках среди отобранных испытаний. Стоит отметить, что отсутствие данной информации ограничивает возможность изучения влияния соответствующих характеристик на эффективность терапии посредством их включения в метарегрессионные модели. В то же время, в виду того, что состояние пациента оказывает значительное влияние на исход терапии, может быть сделан предварительный вывод о правомерности использования подхода смешанных эффектов, так как данный подход позволяет учесть вариабельность в исходах терапии, являющуюся следствием особенностей дизайна клинических исследований.

В качестве факторов, гипотетически влияющих на эффективность лечения, мы рассматривали очередность назначения радио- и иммунотерапии, механизм действия ИКТИ и тип лучевой терапии, а также генез опухолевого очага, в связи с чем соответствующие компоненты были включены в явном виде в метааналитические модели.

Количество исследований в зависимости от значения рассматриваемых факторов представлено в таблице 6.1. Как видно из представленных данных, информация о времени назначения ИКТИ относительно лучевой терапии отсутствует для значительной части исследований. В большей части исследований рассматривается эффективность CTLA-4-направленной терапии, что, вероятно, связано с более ранним поступлением препаратов данной группы в клиническую практику [41]. В то же время, СРХТ превалирует над другими режимами облучения, так как этот метод на данный момент наиболее активно применяется для лечения олигометастатических поражений головного мозга ввиду его более низкой нейротоксичности по сравнению с ОВГМ [200]. В связи с тем, что подавляющая часть исследований проводилась на пациентах с метастазами меланомы, и небольшой объем информации был доступен для других видов опухолей, фактор генеза опухолевых очагов был исключен из дальнейшего рассмотрения. Также стоит отметить, что данные по одногодичному ЛОК доступны всего лишь для 13 когорт, в связи с чем анализ влияния факторов на данный исход не проводился.

Таблица 6.1 – Количество когорт для каждого из исходов в зависимости от значений рассматриваемых характеристик

Стратификация по очередности лечения			
	Одногодичная ОВ, %	Одногодичный ЛОК, %	Частота радионекроза, %
Монорadiотерапия	13	4	11
Одновременный	7	3	4
Последовательный	8	2	4
Неизвестный	22	4	22
Стратификация по классу ИКТИ			
Монорadiотерапия	13	4	11
PD-L1/PD-1	7	1	4
CTLA-4	17	4	4
Смешанная	13	4	22
Стратификация по типу лучевой терапии			
СТРХ	44	13	33
Смешанный	6	0	8
Стратификация по генезу опухолевого очага			
Меланома	44	9	31
Рак легкого и другие солидные опухоли	6	4	10
Всего данных			
Число когорт	50	13	41
Число пациентов	3101	554	1892
Число исследований	30	7	24

## **6.2. Сравнение эффективности и безопасности монорadioлечения и комбинированной радиоиммунотерапии: анализ отношения рисков**

На первом этапе рассчитывалось отношение рисков для рассматриваемых исходов. Стоит отметить, что в части исследований отсутствовала контрольная группа пациентов, получающих лучевую терапию, в связи с чем расчет отношения рисков для соответствующих публикаций не был возможен. Так, информация по одногодичным показателям ОВ и ЛОК, а также частоте радионекроза была доступна лишь для 1970, 463 и 1163 пациентов, соответственно, что значительно меньше общего объема идентифицированных исследований эффективности радиоиммунотерапии (таблица 6.2). Отмечено, что общее количество пациентов, получающих лучевую терапию, для которых была доступна информация по рассматриваемым исходам было значительно больше количества пациентов, получающих комбинированную терапию (1432 против 538, 288 против 175 и 730 против 433 для данных исходов, соответственно), что может быть следствием невысокой распространенности иммунотерапии на момент проведения исследований. Результаты анализа ОР отражены в виде форест-диаграмм (рисунок 6.2), воронкообразные диаграммы рассеяния приведены в Приложении В.

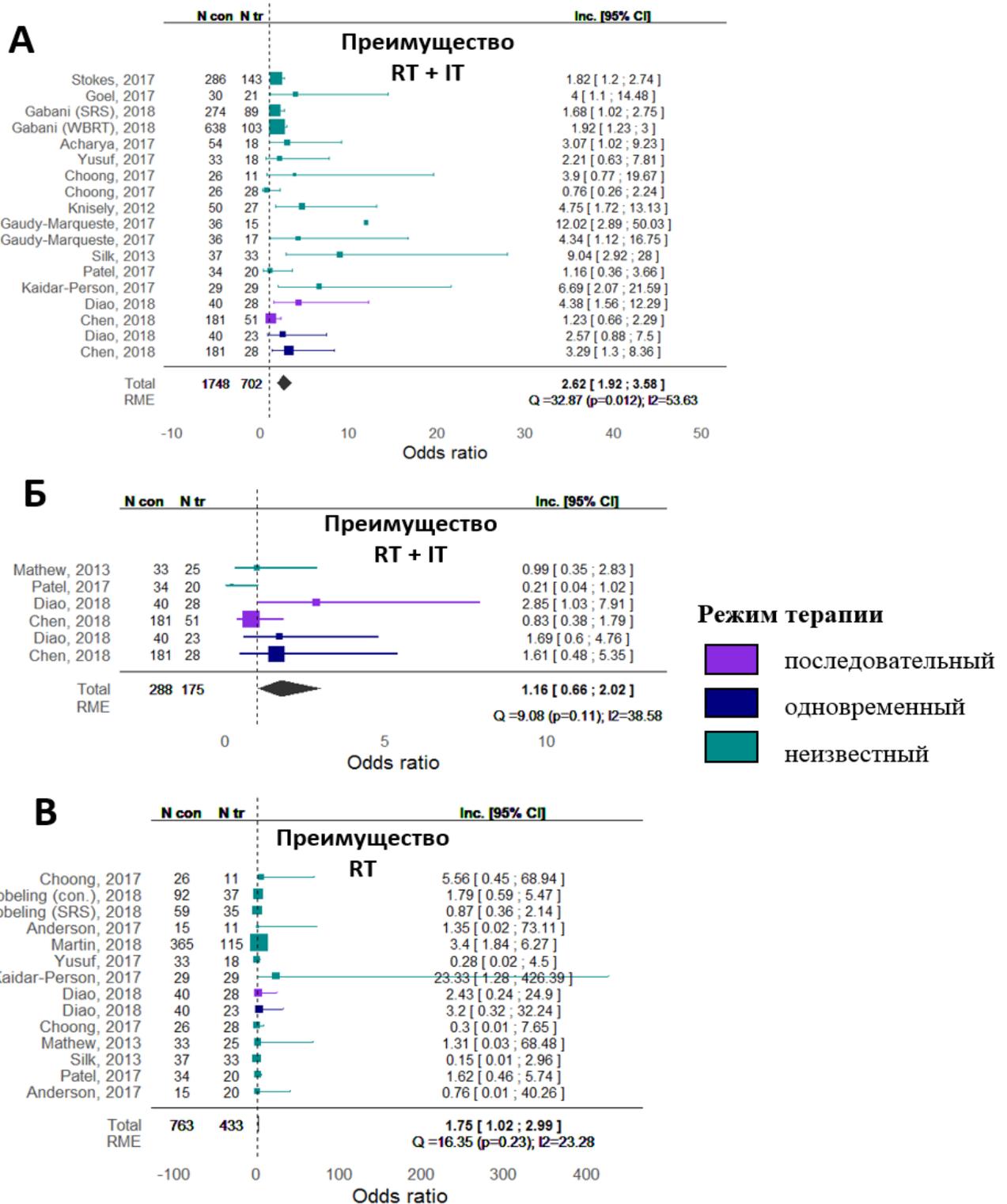


Рисунок 6.2 – «Форест»-диаграммы, отражающие показатели (А) одногодичной ОВ, (Б) одногодичного ЛОК и (В) частоты радионекроза. RT – лучевая терапия, IT – иммунотерапия

На основании результатов анализа можно сделать вывод о статистически значимом увеличении одногодичной ОВ при включении ИКТИ в схему лечения (ОР=1,67 (95% ДИ: 1,4-2,05),  $p < 0,0001$ , рисунок 6.2А). Отмечена высокая гетерогенность в показателе одногодичной ОВ ( $I^2=60,87\%$ ): на уровне индивидуальных исследований ОР варьировал от 0,86 до 4,75. Результаты теста Эггера и анализа воронкообразных диаграмм рассеяния (Приложение В) указывают на возможность смещения результатов анализа в публикациях для показателя одногодичной ОВ, что может быть связано с ретроспективной природой включенных в анализ наблюдений.

Интересно, что несмотря на увеличение одногодичной ОВ, не наблюдается межгрупповых различий в показателе одногодичного ЛОК (ОР=1,04 (95% ДИ: 0,88-1,22,  $p=0,67$ , рисунок 6.2Б) на фоне комбинированного лечения. Данный результат может указывать на гипотетическую роль потенцирования абскопального эффекта радиотерапии на фоне приема ИКТИ в наблюдаемой синергии, что находит отражение в увеличении дистантного интра- и экстракраниального контроля необлучаемых очагов, отмеченного в исследовании [171]. Тест Эггера и анализ воронкообразных диаграмм рассеяния не выявил наличия публикационного смещения (Приложение В).

Отношение частоты случаев радионекроза между группами составило 1,6 (95% ДИ: 1-2,56,  $p=0,05$ ), в то же время рассчитанные значения ДИ не позволяют сделать однозначного вывода о значимости различий между рассматриваемыми группами. Отмечено несоответствие между результатами различных исследований. Так, в работах Харпера Хубелинга и Эрика Андерсона [79; 181] не наблюдалось разницы в частоте радионекроза между рассматриваемыми группами, Орит Кайдар-Пирсон и соавторы [77], напротив, отмечают более высокую встречаемость радионекроза у пациентов на фоне комбинированной терапии. Данные противоречия могут объясняться сложностью дифференциальной диагностики некротических очагов на снимках МРТ [75]. Кроме того, многие авторы отмечают, что радионекроз относится к поздним осложнениям радиолечения, в связи с чем данный эффект может наступать

после момента завершения ретроспективных наблюдений в случае недостаточно продолжительного периода наблюдений. Для данного исхода также не было выявлено наличие публикационного смещения (Приложение В).

Резюмируя полученные результаты, можно сделать вывод о наличии синергетических эффектов между радиолечением и иммунотерапией, выражающихся в увеличении одногодичной ОВ. Однако, стоит отметить, что расчет относительных рисков, хотя и является наиболее традиционным методом сравнения эффективности терапий, все же не позволяет использовать накопленные клинические данные в полном объеме, так как в большей части рассматриваемых исследований отсутствует информация для контрольных групп. Кроме того, суммарное количество пациентов, получающих контрольную лучевую терапию, в данном случае значительно превышает количество пациентов, получающих комбинированную терапию. В связи с этим следующим этапом исследования являлось сравнение эффективности посредством метаанализа непосредственно значений показателей одногодичных ОВ и ЛОК, а также частоты радионекроза.

### **6.3 Изучение факторов, влияющих на одногодичную ОВ: анализ исходов лечения**

В рамках данной задачи нами был использован полный объем отобранной в результате систематического поиска информации (30 исследований, 50 когорт, 5101 пациент). В процессе работы было построено 9 метарегрессионных моделей, предполагающих влияние тех или иных факторов на одногодичную ОВ (ур. 6.1).

$$\Theta_i = \beta_0 + \beta_1 \cdot SEQ_i + \beta_2 \cdot RT_i + \beta_3 \cdot PD_i + u_i, \quad (\text{ур. 6.1})$$

где  $\Theta_i$  – трансформированное значение исхода  $i$ -того исследования,  $SEQ_i$ ,  $RT_i$  и  $PD_i$  – величины, определяющие значение факторов очередности радио- и иммунотерапии,

вила облучения и типа ИКТИ в  $i$ -том исследовании, соответственно;  $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \beta_3$  – параметры, определяющие вклады соответствующих факторов в обобщенную оценку величины исхода,  $u_i$  – случайная величина, следующая нормальному распределению с медианой 0 и дисперсией  $\tau^2$ :  $u_i \sim N(0, \tau^2)$ .

Результаты тестирования моделей представлены в таблицы 6.3. Исходя из таблицы 6.3 можно сделать вывод о том, что модель, в которой учитывается режим лучевой терапии и очередность назначения терапий, обеспечивает наиболее точное описание данных клинических исследований (AICс = - 43,61). Значения соответствующих параметров  $\beta_1$  и  $\beta_3$  говорят о том, что максимальный положительный эффект на одногодичную ОВ достигается при одновременном режиме назначения иммуно- и радиотерапии, а также использовании стереотаксических режимов облучения. Стоит отметить, что на уровне отдельных исследований отмечается более высокая одногодичная ОВ в группах, получающих стереотаксическую хирургию, по сравнению с группами, получающими более консервативные режимы лучевой терапии, например, облучение всего объема головного мозга [78; 189]. Сами авторы работ указывают на тот факт, что нестеротаксические режимы, как правило, назначаются пациентам с большим количеством очагов, что само по себе является неблагоприятным прогностическим фактором. В то же время, результаты проспективных рандомизированных сравнительных исследований лучевой терапии указывают на отсутствие различий в одногодичной ОВ пациентов, получающих стереотаксическую терапию и облучение всего объема головного мозга [200; 201]. Таким образом, мы не можем исключить вероятность влияния сопутствующих факторов на ОВ и сделать однозначный вывод об оптимальном режиме радиолечения при комбинировании с ИКТИ.

На основании результатов анализа можно отметить, что время назначения терапий оказывает существенное влияние на показатель ОВ (Таблица 6.3). Для идентификации наиболее оптимального режима нами был проведен подгрупповой

расчет обобщенной оценки величины эффекта, результаты анализа и данные индивидуальных исследований представлены в виде форест-диаграммы (рисунок 6.3).

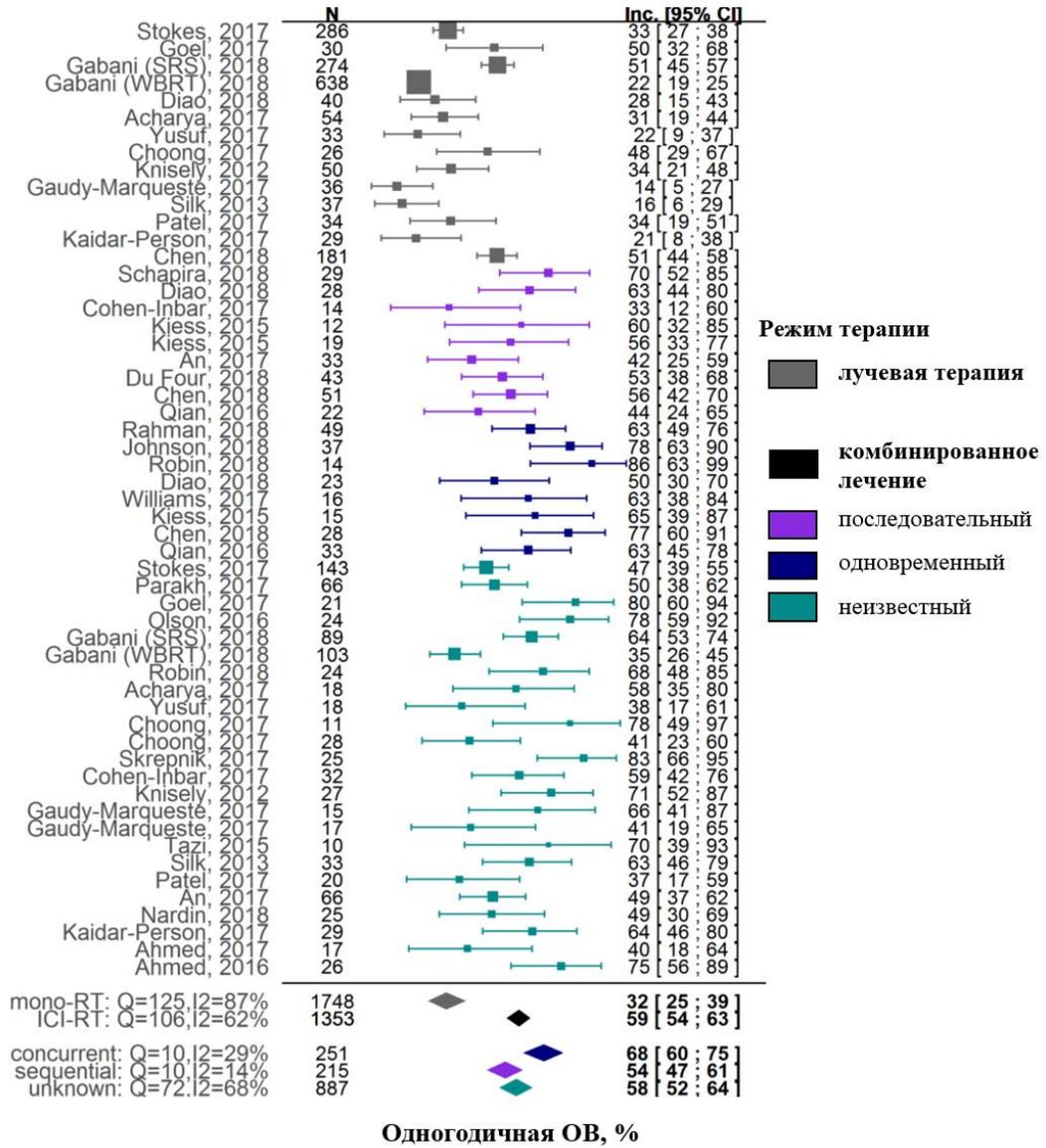


Рисунок 6.3 – «Форест»-диаграмма одногодичной ОВ. Квадраты соответствуют наблюдениям индивидуальных исследований, размер квадратов отражает количество пациентов в когорте, планки погрешностей соответствуют 95% ДИ; величина обобщенного эффекта и 95% ДИ отражены ромбами

Таблица 6.3 – Результаты перебора метарегрессионных моделей, рассматривающих влияние различных факторов на показатель одногодичной ОВ

Факторы	Число степеней свободы	$R^2$ , %	Q	AICc	Коэффициенты модели
-	-	87,11	418,85 ( $p < 0,0001$ )	-20,97	$\beta_0 = 0,8011$ ( $p < 0,0001$ )
Очередность радио- и иммунотерапии	3	76,46	216,65 ( $p < 0,0001$ )	-48,22	$\beta_0 = 0,6035$ ( $p < 0,0001$ ) $\beta_1$ (одновременный прием) = 0,3699 ( $p < 0,0001$ ) $\beta_1$ (последовательный прием) = 0,2165 ( $p = 0,001$ ) $\beta_1$ (режим неизвестен) = 0,2624 ( $p < 0,0001$ )
Тип радиотерапии	1	81,81	291,41 ( $p < 0,0001$ )	-21,61	$\beta_0 = 0,7127$ ( $p < 0,0001$ ) $\beta_2$ (СТРХ) = 0,1086 ( $p < 0,06$ )
Тип иммунотерапии	3	75,55	227,2 ( $p < 0,0001$ )	-45,18	$\beta_0 = 0,6032$ ( $p < 0,0001$ ) $\beta_3$ (CTLA4) = 0,2397 ( $p < 0,0001$ ) $\beta_3$ (PD-1/PD-L1) = 0,3169 ( $p < 0,0001$ ) $\beta_3$ (смешанная ИТ) = 0,2801 ( $p < 0,0001$ )

Таблица 6.3 – Результаты перебора метарегрессионных моделей, рассматривающих влияние различных факторов на показатель одногодичной ОВ (Продолжение таблицы)

Факторы	Число степеней свободы	$R^2$ , %	Q	AICc	Коэффициенты модели
Очередность радио- и иммунотерапии, тип радиотерапии	4	65,13	143,37 ( $p < 0,0001$ )	-53,22	$\beta_0 = 0,5255$ ( $p < 0,0001$ ) $\beta_1$ (одновременный прием) = 0,3674 ( $p < 0,0001$ ) $\beta_1$ (последовательный прием) = 0,2020 ( $p = 0,004$ ) $\beta_1$ (режим неизвестен) = 0,2535 ( $p < 0,0001$ ) $\beta_2$ (СТРХ) = 0,1089 ( $p = 0,0104$ )
Очередность радио- и иммунотерапии, тип иммунотерапии	5	76,98	212,88 ( $p < 0,0001$ )	-44,38	$\beta_0 = 0,6034$ ( $p < 0,0001$ ) $\beta_1$ (одновременный прием) = 0,3685 ( $p < 0,0001$ ) $\beta_1$ (последовательный прием) = 0,2135 ( $p = 0,001$ ) $\beta_1$ (режим неизвестен) = 0,2551 ( $p < 0,0001$ ) $\beta_3$ (CTLA4) = - 0,0223 ( $p = 0,7054$ ) $\beta_3$ (PD-1/PD-L1) = 0,0568 ( $p = 0,3913$ )

#### 6.4. Анализ одногодичного локального контроля облучаемого опухолевого очага

На основании анализа отношения рисков нами не было выявлено статистически значимого увеличения в показателе одногодичного ЛОК при включении ИКТИ в схему лечения. В качестве проверки данного результата нами было проведено непосредственное сравнение показателей ЛОК в группах, получающих моно-радиотерапию и комбинированное лечение. Результаты анализа, полученные на основании 6 исследований, 13 когорт и 525 пациентов, представлены на рисунке 6.4.

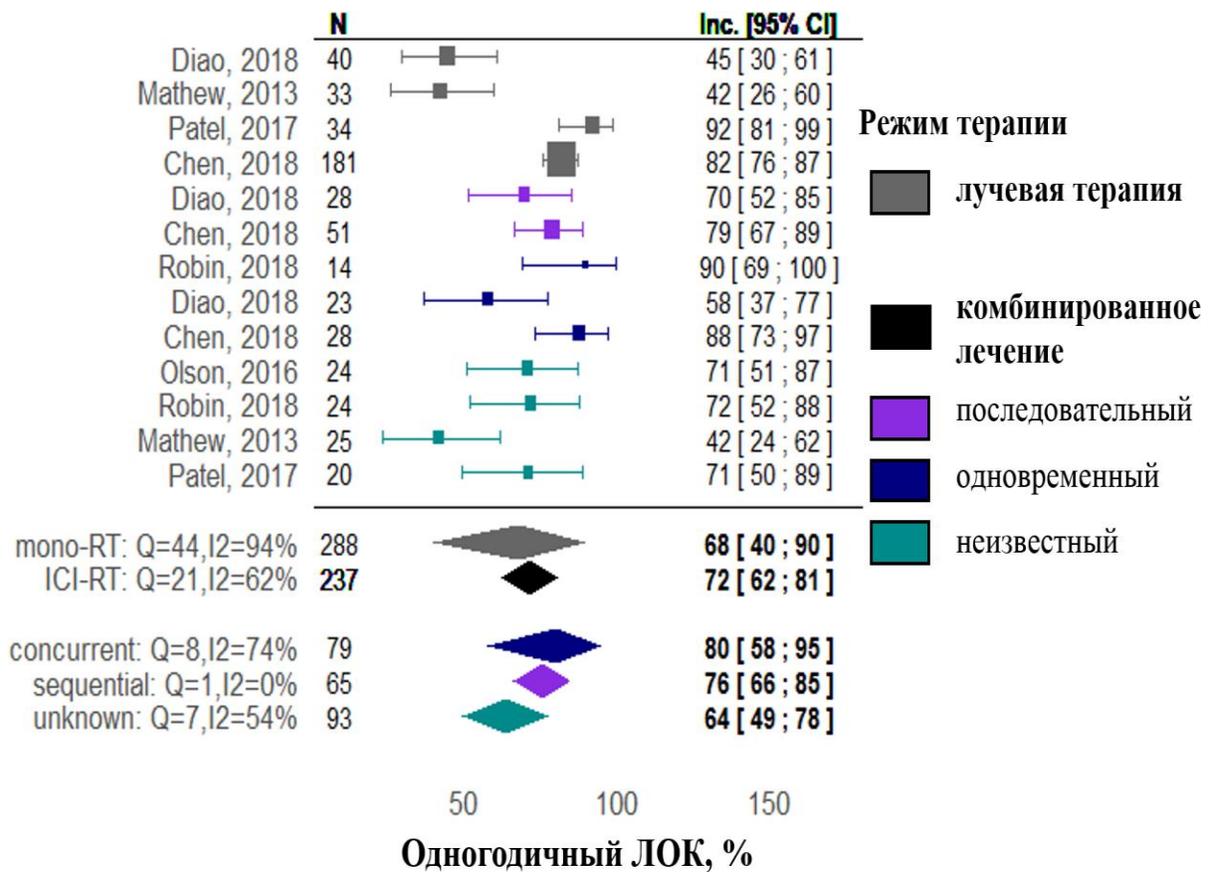


Рисунок 6.4 – Форест-диаграмма одногодичного ЛОК. Квадраты соответствуют наблюдениям индивидуальных исследований, размер квадратов отражает количество пациентов в когорте, планки погрешностей соответствуют 95% ДИ; величина обобщенного эффекта и 95% ДИ отражены ромбами

Как видно из рисунка 6.4, добавление ИКТИ к радиотерапии не приводит к улучшению величины годовичного ЛОК – данный показатель составил 68% (95% ДИ: 40–90%) и 72% (95% ДИ: 62–81%) для монорadiотерапии и комбинированного лечения, соответственно. Отмечена высокая гетерогенность в экспериментальных данных ( $I^2 > 60\%$ ). Таким образом, результаты анализа показателя годовичного ЛОК согласуются с результатами анализа отношения рисков.

### **6.5. Изучение факторов, влияющих на частоту радионекроза: анализ исходов лечения**

Снижение вероятности возникновения побочных эффектов лечения является важной задачей при оптимизации терапевтических схем. В рамках данной работы нами было проведено изучение влияния различных факторов на частоту встречаемости радионекроза – ключевого побочного эффекта радиотерапии. Как и при анализе показателя годовичной ОВ, мы рассматривали влияние очередности радио- и иммунотерапии, механизм действия ИКТИ и режим облучения. Таким образом, структура используемых для данного исхода метарегрессионных моделей была аналогична структуре моделей, предложенных ранее для показателя годовичной ОВ (ур. 6.1).

Результаты тестирования метарегрессионных моделей представлены в таблице 6.4. На основании результатов анализа, резюмированных в таблице 6.4, можно сделать вывод о том, что базовая структура модели, не предполагающая учет дополнительных факторов на показатель частоты радионекроза, является оптимальной ( $AICc = -26,3$ ). В то же время не наблюдается различий в данном показателе между группами, получающими лучевую терапию и различные режимы комбинированной терапии ( $p > 0,05$ ). Также не выявлено связи между режимом облучения и вероятностью радионекроза, однако, данный результат расходится с наблюдениями Харпера Хуббеллинга и коллег, показавшего более высокую частоту данного побочного

эффекта в группах, получающих стереотаксические режимы облучения [79]. Отмечена более высокая вероятность побочных эффектов в группах, получающих смешанный тип ИКТИ, что может быть связано с возможным применением комбинированной CTLA-4 и PD-1/PD-L1-направленной терапии у части пациентов. Результаты погруппового сравнения показателя и данные индивидуальных исследований представлены на рисунке 6.5.

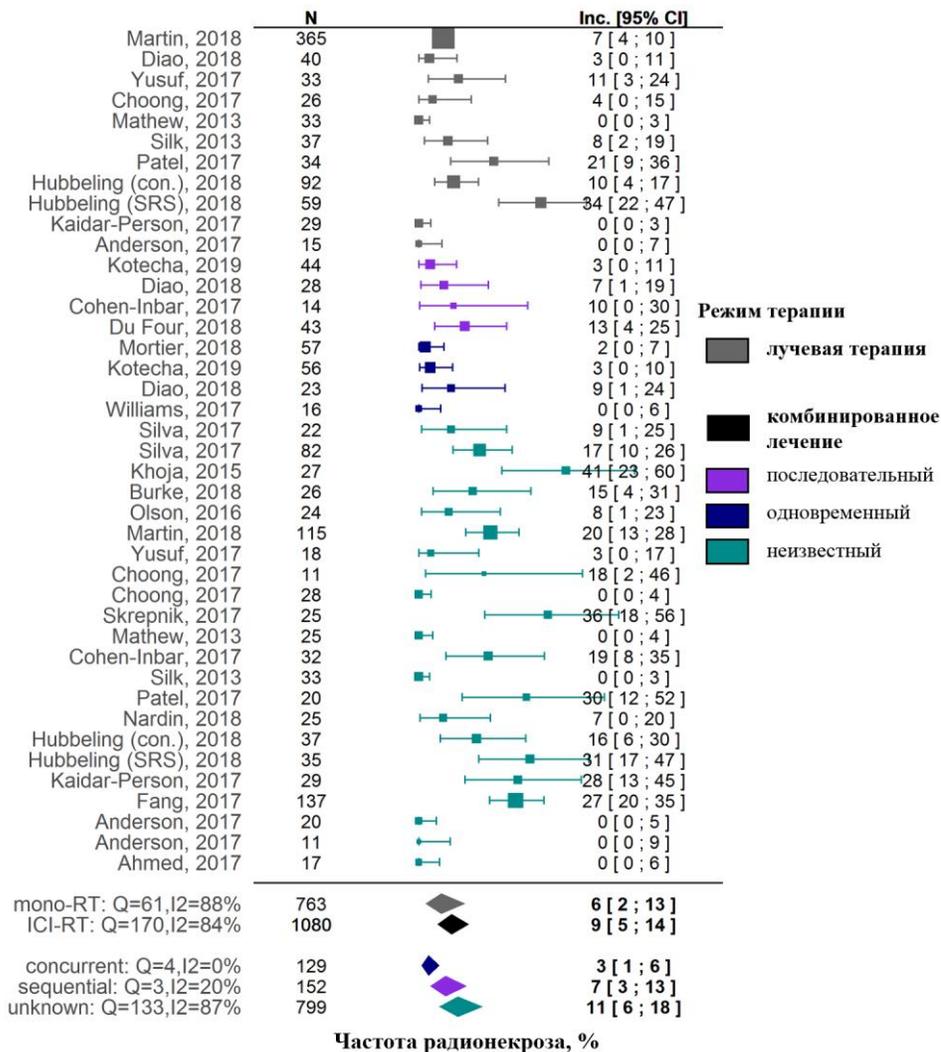


Рисунок 6.5 – «Форест»-диаграмма встречаемости радионекроза. Квадраты соответствуют наблюдениям индивидуальных исследований, размер квадратов отражает количество пациентов в когорте, планки погрешностей соответствуют 95% ДИ; величина обобщенного эффекта и 95% ДИ отражены ромбами

Таблица 6.4 – Результаты перебора метарегрессионных моделей, учитывающих влияние различных факторов на показатель частоты радионекроза

Факторы	Число степеней свободы	$R^2$ , %	Q	AICc	Коэффициенты модели
-	-	82,85	239,13 ( $p < 0,0001$ )	-9,16	$\beta_0 = 0,2928$ ( $p < 0,0001$ )
Очередность радио- и иммунотерапии	3	81,32	203,39 ( $p < 0,0001$ )	-5,05	$\beta_0 = 0,2540$ ( $p < 0,0001$ ) $\beta_1$ (одновременный прием) = -0,0632 ( $p = 0,5257$ ) $\beta_1$ (последовательный прием) = 0,0262 ( $p = 0,8105$ ) $\beta_1$ (режим неизвестен) = 0,087 ( $p = 0,2038$ )
Тип радиотерапии	1	83,27	239,06 ( $p < 0,0001$ )	-7,03	$\beta_0 = 0,307$ ( $p < 0,0001$ ) $\beta_2$ (СТРХ) = -0,0143 ( $p = 0,8430$ )
Тип иммунотерапии	3	80,18	191,77 ( $p < 0,0001$ )	-5,69	$\beta_0 = 0,2544$ ( $p < 0,0001$ ) $\beta_3$ (CTLA4) = 0,0065 ( $p = 0,9309$ ) $\beta_3$ (PD-(L)1) = 0,0438 ( $p = 0,5573$ ) $\beta_3$ (смешанная ИТ) = 0,1881 ( $p = 0,0514$ )

Таблица 6.4 – Результаты перебора метарегрессионных моделей, учитывающих влияние различных факторов на показатель частоты радионекроза (Продолжение таблицы)

Факторы	Число степеней свободы	$R^2$ , %	Q	AICc	Коэффициенты модели
Очередность радио- и иммунотерапии, тип радиотерапии	4	81,79	203,20 ( $p < 0,0001$ )	-2,58	$\beta_0 = 0,2778$ ( $p < 0,0001$ ) $\beta_1$ (одновременный прием) = -0,0685 ( $p = 0,5030$ ) $\beta_1$ (последовательный прием) = 0,0243 ( $p = 0,8278$ ) $\beta_1$ (режим неизвестен) = 0,0872 ( $p = 0,2113$ ) $\beta_2$ (СТРХ) = -0,0299 ( $p = 0,6781$ )
Очередность радио- и иммунотерапии, тип иммунотерапии	5	80,20	181,82 ( $p < 0,0001$ )	-1,56	$\beta_0 = 0,2544$ ( $p < 0,0001$ ) $\beta_1$ (одновременный прием) = 0,0735 ( $p = 0,5846$ ) $\beta_1$ (последовательный прием) = 0,1591 ( $p = 0,2614$ ) $\beta_1$ (режим неизвестен) = 0,1881 ( $p = 0,0516$ ) $\beta_3$ (CTLA4) = -0,1506 ( $p = 0,1320$ ) $\beta_3$ (PD-(L)1) = -0,1193 ( $p = 0,2279$ )

Результаты погруппового сравнительного анализа говорят об отсутствии значимого эффекта ИКТИ на риск развития данного осложнения (рисунок 6.5) – показатель составил 6% (95% ДИ: 2–13%) и 9% (95% ДИ: 5–14%) для моно-радиолечения и комбинированной терапии, соответственно. Отмечена значительная гетерогенность в экспериментальных данных: так, частота радионекроза в группах, получающих комбинированную терапию, варьировалась от 0 до 41%, в контрольных группах – от 0 до 36% (рисунок 6.5), показатель  $I^2$  составил 84 и 88 % соответственно. Как было отмечено ранее, такая высокая вариабельность в рассматриваемом исходе может быть обусловлена сложностью дифференциальной диагностики радионекроза и недостаточным периодом ретроспективных наблюдений в некоторых исследованиях.

\*\*\*

Резюмируя результаты проведенного метаанализа клинических исследований, можно сделать вывод о большей эффективности комбинированной радио- и иммунотерапии с использованием ИКТИ по сравнению с монорадиолечением и сопоставимым риском развития радионекроза для данных терапевтических воздействий. При этом стоит отметить, что одновременное назначение терапевтических модальностей ассоциируется с наиболее высоким показателем одногодичной ОВ, что согласуется с ранее полученными результатами модельных расчетов и доклинических исследований.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Цифровизация пространства, накопление больших объемов экспериментальных данных и увеличение вычислительных мощностей сопровождается усилением роли комплексного использования информации в задачах оптимизации различных процессов. В текущей работе мы продемонстрировали применение различных методов математического моделирования и анализа данных как для изучения фундаментальных закономерностей функционирования живых систем, так и для решения прикладных задач фармакологии – оптимизации дизайна доклинических исследований, трансляции полученных результатов в клиническую практику и разработки биомаркерной стратегии в рамках персонализации терапии.

В качестве объекта исследования нами был выбран новый класс препаратов для лечения онкологических заболеваний – ИКТИ. Иммунотерапевтические средства не только являются одним из наиболее перспективных и современных видов терапии, но и обладают особым механизмом действия: в отличие от традиционных видов лечения, биологическая активность которых направлена непосредственно на клетки опухоли, они воздействует, в первую очередь, на компоненты иммунной системы человека, в связи с чем вызывают особый интерес со стороны исследователей. В своей работе мы решили сосредоточиться на вопросах оптимизации комбинированной радио- и иммунотерапии с применением PD-1/PD-L1-специфичных антител и количественно охарактеризовать механизмы синергии данных терапевтических воздействий. В частности, нами была изучена зависимость между дозой, временем и режимом фракционирования облучения и эффективностью радиоиммунотерапии. Полученные результаты были сопоставлены с многочисленными данными доклинических экспериментов и наблюдениями клинической практики.

На первом этапе работы была проведена статистическая обработка данных доклинических исследований противоопухолевой активности различных режимов радиолечения, анти-PD-1/PD-L1 терапии и их комбинации, проведенных на 145

иммунокомпетентных особях инбредных мышей-альбиносов, инокулированных клетками высокоиммуногенной колоректальной карциномы СТ26. По результатам статистической обработки нами был сделан вывод о наличии синергетического эффекта при использовании комбинированной радио- и иммунотерапии, при этом была отмечена тенденция к снижению эффективности лечения при увеличении временного интервала между терапиями. В то же время полученные результаты не были достаточными для обоснования оптимального режима комбинированной терапии. Данная сложность объясняется невозможностью применения статистического анализа для интерпретации конечных результатов эксперимента ввиду преждевременного выбывания животных на фоне прогрессирования заболевания, а также разнообразием возможных режимов фракционирования облучения и гипотетического времени назначения анти-PD-1/PD-L1 терапии относительно лучевой терапии.

Для изучения зависимости доза облучения-биологическая активность и сравнения эффективности различных гипотетических режимов радиоиммунотерапий нами была использована методология математического моделирования. Структура модели была разработана на основании ранее опубликованных работ: так, для воспроизведения базовой динамики роста опухоли была выбрана модель Гомпетрца, а биологические эффекты радиотерапии описаны с помощью активно используемой в радиобиологии ЛКМ [103; 105]. Для описания ключевых компонентов противоопухолевого иммунного ответа нами была предложена система дифференциальных уравнений, отражающая ключевые этапы иммуноонкологического цикла [20], а именно, иммуногенную гибель клеток опухоли, презентацию опухолевых антигенов, экспансию опухоль-специфичных Т-лимфоцитов и лизис опухолевых клеток. Иммуносупрессивные механизмы в модели были условно разделены на PD-1/PD-L1-опосредованные и независимые, однако, детальное описание всех возможных иммуносупрессивных компонентов МОО не представлялось нам оптимальным. Данный выбор был обусловлен противоречивой

литературной информацией относительно изучаемых механизмов и существующими на данный момент пробелами в понимании особенностей противоопухолевого иммунного ответа. Разработанная структура модели позволила на основании экспериментальных данных и литературных источников однозначно идентифицировать параметры и, таким образом, предоставить количественную характеристику рассматриваемых процессов, и, в то же время, проследить временную динамику различных компонентов противоопухолевого иммунного ответа.

В рамках данной работы нами был выбран подход НМСЭ, который не только позволил оценить усредненный дозозависимый эффект терапии, но и проследить взаимосвязь между вариабельностью различных биологических процессов и вероятностью ответа на лечение. Нами было установлено, что иммуногенность опухоли является ключевым фактором, определяющим эффективность рассматриваемых терапевтических воздействий. Модельные расчеты показали, что высокоиммуногенные опухоли характеризуются более высокой инфильтрацией опухоль-специфичных клонов лимфоцитов как до, так и в процессе терапии. На основании данного результата нами была предложена биомаркерная стратегия, направленная на идентификацию пациентов с высокой мутационной нагрузкой и наличием эффекторных опухоль-специфичных клеточных популяций лимфоцитов. Данные результаты могут быть использованы при персонализации радио-иммунотерапий в целях увеличения эффективности лечения.

Еще одним способом оптимизации терапий является выбор максимально эффективной терапевтической схемы, однако, данный подход не может быть реализован в полной мере в рамках доклинических исследований ввиду этических и финансовых аспектов. В нашей работе вышеизложенная проблема была решена посредством проведения «виртуальных экспериментов», т. е. получения модельных расчетов эффективности альтернативных режимов терапии. Нами было установлено, что эффективность комбинированной радио- и иммунотерапии зависит как от суммарной дозы, так и от режима фракционирования облучения. Так, было показано,

что однократные высокодозные режимы более эффективны по сравнению с гипофракционными при сопоставимой суммарной дозе облучения в составе комбинированной терапии. Данное наблюдение может объясняться нелинейной структурой ЛКМ, предполагающей квадратичную зависимость скорости гибели опухолевых клеток, а соответственно, и выброса опухолевых антигенов, от дозы облучения.

Как было отмечено ранее, выбор времени назначения ИКТИ также играет немаловажную роль в успехе лечения. Одновременный прием радио- и иммунотерапии показал наибольшую эффективность в доклинических экспериментах, в то время как увеличение временного интервала между облучением животных и иммунотерапией негативно влияло на вероятность отторжения опухоли. Использование модельных расчетов позволило нам оценить перспективность альтернативных терапевтических сценариев, а также изучить динамику иммунных процессов, обуславливающих эффект лечения. Так, было показано, что ионизирующее облучение сопровождается временной активацией противоопухолевого иммунитета, проявляющейся умеренным увеличением количества лимфоцитов в сайте опухоли, ограниченным PD-1/PD-L1-опосредованными и иными иммуносупрессивными компонентами МОО по механизму обратной связи. Данное наблюдение говорит в пользу биологической рациональности блокады PD-1/PD-L1 пути перед проведением лучевой терапии.

Для подтверждения обоснованности полученных расчетов нами была проведена валидация, подразумевающая воспроизведение результатов экспериментов, не использованных ранее для оценки параметров модели, например, исследований эффективности различных режимов облучения (7 Гр и 3x4 Гр). Соответствие между модельными симуляциями и данными независимых наблюдений позволило нам сделать вывод о возможности использования предложенной модели для экстраполяции эффективности используемых в экспериментах режимов терапии на альтернативные схемы лечения. В то же время сопоставление рассчитанной в модели

динамики различных компонентов МОО с доступными литературными данными, например, плотностью тех или иных клеточных популяций в биопсийном материале сингенных мышинных опухолей, позволило оценить правомерность использования выбранной системы уравнений.

Резюмируя вышеописанные результаты, можно отметить, что применение математического моделирования позволило наиболее эффективное использование экспериментальной информации, полученной в доклинических исследованиях, для обоснованного выбора максимально эффективной терапевтической схемы. Ввиду того, что вопрос транслируемости доклинических результатов в клиническую практику является особенно актуальным для иммунотерапий, что обусловлено межвидовыми различиями в структуре иммунной системы человека и мыши [165], следующим этапом работы являлось сопоставление полученных расчетов с данными клинических исследований. Для изучения данного вопроса мы провели систематический поиск и метаанализ клинических исследований комбинированной радио- и иммунотерапии. В процессе работы были изучены статьи, доступные в базе данных PubMed, а также материалы ключевых онкологических и радиобиологических конференций, по итогам поиска было отобрано 40 работ, соответствующих заданным критериям включения.

При изучении литературы было отмечено, что проспективные клинические исследования пока не окончены, и опубликованные на данный момент работы носят ретроспективный характер, что в значительной мере повлияло на ход дальнейшего анализа. Так, выбор конечных точек лечения – годовичных показателей ОБ и ЛОК, а также частоты радионекроза был обусловлен доступностью информации о данных исходах в текстах статей. В то же время, в рамках проверки гипотезы о возможности потенцирования абскопального эффекта ионизирующего облучения посредством блокады PD-1/PD-L1-опосредованного механизма, было необходимым проанализировать показатели дистантного интра- и экстракраниального контроля, а также ВВП, однако данная информация была доступна лишь для небольшой части

исследований. Анализ частоты объективных ответов на терапию также не представлялся нам возможным ввиду различных критериев оценки ответа на терапию, применяемых исследователями, в частности, критерии Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST), Response Assessment in Neuro-Oncology (RANO) и immune-related Response Criteria (irRC) [202; 203]. Информация о частоте побочных эффектов также носила несистемный характер, наиболее полная информация была представлена для частоты радионекроза – одного из ключевых осложнений лучевой терапии, которое может приводить к развитию неврологических нарушений и гибели пациента [75], в связи с чем данный показатель и был рассмотрен в нашей работе.

Другой сложностью, возникшей в процессе анализа ретроспективных исследований, являлось отсутствие систематизированного описания исходных характеристик пациентов и информации о предыдущих терапиях, что привело к невозможности дополнительного исследования влияния данных факторов на исходы лечения. Таким образом, в своем анализе мы сосредоточились на изучении двух важных аспектов комбинированной радио- и иммунотерапии, исследованных прежде с помощью разработанной математической модели, а именно, относительного времени назначения радио- и иммунотерапии, а также используемого режима облучения. На основании полученных результатов было установлено, что назначение иммунотерапии на фоне радиотерапии является наиболее эффективным и приводит к двукратному увеличению показателя одногодичной ОВ, при этом одновременное назначение терапий является оптимальным. В то же время нами не было выявлено значимого увеличения частоты радионекроза при назначении ИКТИ на фоне радиолечения.

Стоит упомянуть, что в доклинических экспериментах изучалась эффективность комбинации радиолечения с PD-1/PD-L1-специфичными антителами, в то время как в метаанализ нами также были включены исследования эффективности и других представителей класса ИКТИ – CTLA-4-специфичных антител. Данное решение было принято в процессе анализа литературы и связано с недостаточным

объемом клинических данных, доступных для PD-1/PD-L1-специфичных антител, необходимым для количественного изучения взаимосвязи между режимами терапии и клиническими исходами. Правомерность включения дополнительной информации была проверена посредством сравнительного анализа эффективности и безопасности PD-1/PD-L1- и CTLA-4-направленных терапий, в процессе которого не было выявлено различий в эффективности и безопасности препаратов в рамках рассматриваемых исходов.

Еще одним важным фактором, влияющим на эффективность лечения, является режим проводимой лучевой терапии. В настоящее время на фоне технического прогресса наблюдается смена парадигмы радиотерапевтических подходов: ОВГМ уступает место стереотаксическим режимам облучения, предполагающим точечную доставку больших доз ионизирующего излучения к таргетным очагам [204]. Однако, стоит отметить, что СТРХ, как правило, назначается пациентам с олигометастатическими поражениями мозга, в то время как ОВГМ до сих пор активно используется при лечении больных с большим количеством очагов [204]. Проведенный метаанализ указал на более высокие показатели выживаемости пациентов, получающих СТРХ, однако, полученный результат может говорить скорее о более благоприятном начальном статусе данных пациентов нежели о большей эффективности СТРХ по сравнению с ОВГМ в сочетании с иммунотерапией. Таким образом, данный результат должен быть подтвержден в рамках проспективных рандомизированных клинических исследований с участием пациентов со сходным статусом и сопоставимым объемом метастатического поражения мозга. В текущий момент в активной фазе находится несколько подобных исследований (NCT03340129, NCT04427228).

В заключение стоит отметить, что в рамках данной работы мы сфокусировались лишь на некоторых аспектах эффективности комбинации ИКТИ и лучевой терапии, в то время как существует ряд и других вопросов, которые на данный момент активно изучаются в клинических исследованиях. Так, проведенный метаанализ основан, в

первую очередь, на данных, полученных при лечении метастазов меланомы и НМРЛ, однако исследуются и другие патологии, например, опухоли мозга (NCT02617589, NCT04396860), метастатические поражения мозга на фоне трижды негативного рака молочной железы (исследования NCT03483012, NCT03449238) и уротелиальной карциномы (исследование NCT03115801). Актуальными остаются проблемы терапии метастатического поражения печени и костного мозга, эффективность радиоиммунотерапии в данных случаях изучается в исследованиях NCT03042156, NCT03867175, NCT03101475 и др. В то же время активно исследуется эффективность комбинированной радио- и иммунотерапии с использованием новых классов иммунопрепаратов, например, биспецифичных антител (исследование NCT03705403) или вакцин (исследования NCT01436968, NCT02405585, NCT03317158, NCT02107430). Применение передовых методов математического моделирования и анализа собираемой в данных исследованиях информации позволит в значительной мере раскрыть потенциал комбинированной радио- и иммунотерапии, продлить жизнь онкологических больных и повысить качество жизни, минимизировав риски возникновения побочных эффектов лечения.

## ВЫВОДЫ

1. У мышей с колоректальной аденокарциномой СТ26 показана наибольшая эффективность режимов радиотерапии 5x2 Гр, 7 Гр и 3x4 Гр с одновременным назначением PD-(L)1 моноклональных антител.
2. Предложенная математическая модель позволяет количественно охарактеризовать биологические эффекты рассматриваемых терапий на компоненты противоопухолевого иммунного ответа и оценить их межиндивидуальную вариабельность на примере мышинной колоректальной аденокарциномы СТ26.
3. Согласно модельным расчетам, гиперфракционные режимы обладают большей эффективностью по сравнению с гипофракционными. Установлено, что более позднее начало лечения в доклинических экспериментах негативно влияет на показатели эффективности терапии.
4. Показано, что иммуногенная гибель опухолевых клеток под действием ионизирующего излучения сопровождается временным увеличением инфильтрации опухоли цитотоксическими лимфоцитами. Применение PD-1/PD-L1-специфичных моноклональных антител в режиме 10 мг/кг 2 раза в неделю обеспечивает полную блокаду PD-1/PD-L1-опосредованной иммуносупрессии и позволяет добиться более выраженного увеличения уровня цитотоксических лимфоцитов по сравнению с монорадиолечением.
5. Установлено, что высокая инфильтрация опухоли цитотоксическими лимфоцитами на момент начала радиоиммунотерапии ассоциируется с высокой вероятностью успеха лечения и может быть использована в качестве предиктивного биомаркера.
6. Результаты доклинических исследований и математических расчетов подтверждаются клиническими данными: отмечена большая эффективность комбинированной терапии по сравнению с монорадиолечением, при этом

наиболее выраженный эффект наблюдается при одновременном назначении радио- и иммунотерапии.

### **Научно-практические рекомендации**

1. Для увеличения эффективности иммунотерапии в рамках доклинических исследований рекомендуется введение PD-1/PD-L1-специфичных моноклональных антител одновременно с началом лучевой терапии.

2. Для достижения максимальной эффективности комбинированной радио-и иммунотерапии при проведении доклинических исследованиях рекомендуется использование высокодозных режимов облучения.

3. Для оценки вероятности ответа на терапию в рамках доклинических исследований необходимо проводить измерения уровня опухолинфильтрирующих лимфоцитов перед началом лечения.

4. Для подтверждения результатов метаанализа требуется проведение проспективных плацебо-контролируемых исследований.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

ВБП	– выживаемость без признаков прогрессирования
ВДФ	– время-доза-фракционирование
в/б	– внутрибрюшинный
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ДИ	– доверительный интервал
ИДО	– индоламин-2,3-диоксигеназа
ИГХ	– иммуногистохимия
ИКТИ	– ингибиторы контрольных точек иммунитета
ИО	– иммуноонкология
ЛКМ	– линейно-квадратичная модель
ЛОК	– локальный опухолевый контроль
МИВ	– межиндивидуальная вариабельность
МРТ	– магнитно-резонансная томография
НМРЛ	– немелкоклеточный рак легкого
МОО	– микроокружение опухоли
НМСЭ	– нелинейная модель смешанных эффектов
ОДУ	– обыкновенные дифференциальные уравнения
ОВ	– общая выживаемость
ОВГМ	– облучение всего головного мозга
ОР	– отношение рисков
ПО	– программное обеспечение
ПИ	– предсказательный интервал
СТРХ	– стереотаксическая радиохирургия
ФМП	– функция максимального правдоподобия
ЧДУ	– частные дифференциальные уравнения

APC	– антигенпрезентирующие клетки (от англ. antigen presenting cells)
ASCO	– Американское общество клинической онкологии (от англ. American Society for Clinical Oncology)
ASTRO	– Американское общество радиоонкологии (от англ. American Society for Radiation Oncology)
Breg	– регуляторные В-клетки (от англ. regulatory B-cells)
CART	– Т-лимфоциты с химерным антигенным рецептором (от англ. chimeric antigen receptor T cells)
CCR5	– С-С-рецептор хемокина 5 (от англ. C-C chemokine receptor type 5)
CTL	цитотоксические Т-лимфоциты (от англ. cytotoxic T-lymphocytes)
CTLA-4	– цитотоксический Т-лимфоцит-связанный протеин 4 (от англ. cytotoxic T-lymphocyte associated protein-4)
ECOG	– восточная кооперативная онкологическая группа (от англ. Eastern Cooperative Oncology Group)
ESMO	– Европейское общество медицинской онкологии (от англ. European Society for Medical Oncology)
FDA	– управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (от англ. Food and Drug Administration)
GITR	– протеин глюкокортикоид-индуцированного рецептора фактора некроза опухоли (от англ. glucocorticoid-induced TNFR-related protein)
IAR	– скорость иммунной активации (от англ. immune activation rate)
ICOS	– индуцируемый коstimулятор Т-лимфоцитов (от англ. inducible T-cell co-stimulator)
INF- $\gamma$	– интерферон- $\gamma$ (от англ. interferon- $\gamma$ )
IWRES	– индивидуальные взвешенные остатки (от англ. Individual weighted residuals)

irRC	– иммунородственный критерий ответа (от англ. immune-related response criteria)
ISC	– иммуносупрессорные клетки (от англ. immunosuppressive cells)
KIR-3	– иммуноглобулиноподобный рецептор киллерных клеток-3 (от англ. killer cell immunoglobulin-like receptor-3)
LAG-3	– ген активации лимфоцитов 3 (от англ. lymphocyte-activation gene-3)
MDSC	– миелоидные супрессорные клетки (от англ. myeloid derived suppressor cells)
MHC	– главный комплекс гистосовместимости (от англ. major histocompatibility complex)
MOOSE	– метаанализ обсервационных исследований в эпидемиологии (от англ. meta-analyses of observational studies in epidemiology)
PD-1	– белок программируемой клеточной смерти 1 (от англ. programmed cell death-1)
PD-1	– лиганд к белку программируемой клеточной смерти 1 (от англ. programmed cell death ligand-1)
PI3K $\delta$	– фосфоинозитид-3-киназа $\delta$ (от англ. phosphoinositide 3-kinase $\delta$ )
PRISMA	– предпочтительные элементы отчетности для систематических обзоров и метаанализа (от англ. preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses)
PWRES	– популяционные взвешенные остатки (от англ. population weighted residuals)
RECIST	– критерии оценки отклика в солидных опухолях (от англ. response evaluation criteria in solid tumors)
RANO	(от англ. response assessment in neuro-oncology)
SAEM	– алгоритм стохастической аппроксимации (от англ. stochastic approximation expectation maximization)

SRS	– стереотаксическая радиохирургия (от англ. stereotactic radiosurgery)
STAT3	– сигнальный белок и активатор транскрипции-3 (signal transducer and activator of transcription 3) – сигнальный белок и активатор транскрипции (от англ. signal transducer and activator of transcription)
TAM	– опухоль-ассоциированные макрофаги (от англ. tumor-associated macrophages)
Th-0	– наивные Т-хелперы (от англ. T-helpers 0)
Th-1	– Т-хелперы 1 типа (от англ. T-helpers 1)
TGF- $\beta$	– трансформирующий ростовой фактор- $\beta$ (от англ. transforming growth factor- $\beta$ )
TIM-3	– Т-клеточный иммуноглобулин и муциновый белок 3 (от англ. T-cell immunoglobulin and mucin-domain containing-3)
TNF	– фактор некроза опухолей (от англ. tumor necrosis factor)
Treg	– регуляторные Т клетки (от англ. regulatory Tcells)
VEGF	– фактор роста эндотелия сосудов (от англ. vascular endothelial growth factor)
VISTA	– V-доменный иммуноглобулиновый супрессор активации Т-клеток (от англ. v-domain Ig suppressor of T cell activation)

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Koo T., Kim I.A. Radiotherapy and immune checkpoint blockades: a snapshot in 2016//Radiation Oncology Journal, 2016, Vol. 34, No. 4, P. 250-259.
2. Tang C., Wang X., Soh H., Seyedin S., Cortez M.A., Krishnan S., Massarelli E., Hong D., Naing A., Diab A., Gomez D., Ye H., Heymach J., Komaki R., Allison J.P., Sharma P., Welsh J.W. Combining Radiation and Immunotherapy: A New Systemic Therapy for Solid Tumors?//Cancer Immunology Research, 2014, Vol. 2, No. 9, P. 831-838.
3. Wang Y., Deng W., Li N., Neri S., Sharma A., Jiang W., Lin S.H. Combining Immunotherapy and Radiotherapy for Cancer Treatment: Current Challenges and Future Directions//Frontiers in Pharmacology, 2018, Vol. 9, P.185.
4. Gunderson A.J., Young K.H. Exploring optimal sequencing of radiation and immunotherapy combinations//Advances in Radiation Oncology, 2018, Vol. 3, No. 4, P. 494-505.
5. Young K.H., Baird J.R., Savage T., Cottam B., Friedman D., Bambina S., Messenheimer D.J., Fox B., Newell P., Bahjat K.S., Gough M.J., Crittenden M.R. Optimizing Timing of Immunotherapy Improves Control of Tumors by Hypofractionated Radiation Therapy//PLOS ONE, 2016, Vol. 11, No. 6, P. e0157164.
6. Van Limbergen E.J., De Ruyscher D.K., Olivo Pimentel V., Marcus D., Berbee M., Hoeben A., Rekers N., Theys J., Yaromina A., Dubois L.J., Lambin P. Combining radiotherapy with immunotherapy: the past, the present and the future//The British Journal of Radiology, 2017, Vol. 90, No. 1076, P. 20170157.
7. Bang A., Schoenfeld J.D. Immunotherapy and radiotherapy for metastatic cancers//Annals of Palliative Medicine, 2018, Vol. 8, P. 710-710.

8. McCarthy E.F. The toxins of William B. Coley and the treatment of bone and soft-tissue sarcomas//The Iowa Orthopaedic Journal, 2006, Vol. 26, P. 154-158.
9. Decker W.K., Silva R.F. da, Sanabria M.H., Angelo L.S., Guimarães F., Burt B.M., Kheradmand F., Paust S. Cancer Immunotherapy: Historical Perspective of a Clinical Revolution and Emerging Preclinical Animal Models//Frontiers in Immunology, 2017, Vol. 8. P.829
10. Oiseth S.J., Aziz M.S. Cancer immunotherapy: a brief review of the history, possibilities, and challenges ahead//Journal of Cancer Metastasis and Treatment, 2017, Vol. 3, No. 10, P. 250.
11. Burnet F.M. Immunological surveillance in neoplasia//Transplantation Reviews, 1971, Vol. 7, P. 3-25.
12. Teng M.W.L., Galon J., Fridman W.-H., Smyth M.J. From mice to humans: developments in cancer immunoediting//Journal of Clinical Investigation, 2015, Vol. 125, From mice to humans, No. 9, P. 3338-3346.
13. Kroemer G., Galluzzi L., Kepp O., Zitvogel L. Immunogenic Cell Death in Cancer Therapy//Annual Review of Immunology, 2013, Vol. 31, No. 1, P. 51-72.
14. Ishida Y., Agata Y., Shibahara K., Honjo T. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death//The EMBO journal, 1992, Vol. 11, No. 11, P. 3887-3895.
15. Krummel M.F., Allison J.P. CD28 and CTLA-4 have opposing effects on the response of T cells to stimulation//The Journal of Experimental Medicine, 1995, Vol. 182, No. 2, P. 459-465.
16. Chen D.S., Mellman I. Elements of cancer immunity and the cancer-immune set point//Nature, 2017, Vol. 541, No. 7637, P. 321-330.

17. Lanitis E., Dangaj D., Irving M., Coukos G. Mechanisms regulating T-cell infiltration and activity in solid tumors//Annals of Oncology, 2017, Vol. 28, No. suppl\_12, P. xii18-xii32.
18. Burkholder B., Huang R.-Y., Burgess R., Luo S., Jones V.S., Zhang W., Lv Z.-Q., Gao C.-Y., Wang B.-L., Zhang Y.-M., Huang R.-P. Tumor-induced perturbations of cytokines and immune cell networks//Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer, 2014, Vol. 1845, No. 2, P. 182-201.
19. Galon J., Bruni D. Approaches to treat immune hot, altered and cold tumours with combination immunotherapies//Nature Reviews Drug Discovery, 2019.
20. Chen D.S., Mellman I. Oncology Meets Immunology: The Cancer-Immunity Cycle//Immunity, 2013, Vol. 39, Oncology Meets Immunology, No. 1, P. 1-10.
21. Wirth T.C., Kühnel F. Neoantigen Targeting—Dawn of a New Era in Cancer Immunotherapy?//Frontiers in Immunology, 2017, Vol. 8.P. 1848
22. Schumacher T.N., Schreiber R.D. Neoantigens in cancer immunotherapy//Science, 2015, Vol. 348, No. 6230, P. 69-74.
23. Pardoll D.M. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy//Nature Reviews Cancer, 2012, Vol. 12, No. 4, P. 252-264.
24. Khalil D.N., Smith E.L., Brentjens R.J., Wolchok J.D. The future of cancer treatment: immunomodulation, CARs and combination immunotherapy//Nature Reviews Clinical Oncology, 2016, Vol. 13, No. 5, P. 273-290.
25. Anderson A.C., Joller N., Kuchroo V.K. Lag-3, Tim-3, and TIGIT: Co-inhibitory Receptors with Specialized Functions in Immune Regulation//Immunity, 2016, Vol. 44, No. 5, P. 989-1004.

26. Crespo J., Sun H., Welling T.H., Tian Z., Zou W. T cell anergy, exhaustion, senescence, and stemness in the tumor microenvironment//Current Opinion in Immunology, 2013, Vol. 25, No. 2, P. 214-221.
27. Кадагидзе З.Г., Черткова А.И. Иммунная система и рак//Практическая онкология, 2016, Том 17, № 2, с. 62-73.
28. Зибилов Р.Ф., Мозеров С.А. Характеристика клеточного микроокружения опухоли//Онкология. Журнал им. Герцена, 2018, Том 7, № 2, с. 67-72.
29. Adams J.L., Smothers J., Srinivasan R., Hoos A. Big opportunities for small molecules in immuno-oncology//Nature Reviews Drug Discovery, 2015, Vol. 14, No. 9, P. 603-622.
30. Чумаков П.М. Обеспечат ли онколитические вирусы революцию в онкологии//Вестник Российской академии наук, 2019, Том 89, № 5, с. 475-484.
31. Joyce J.A., Fearon D.T. T cell exclusion, immune privilege, and the tumor microenvironment//Science, 2015, Vol. 348, No. 6230, P. 74-80.
32. Dougan M., Dranoff G., Dougan S.K. Cancer Immunotherapy: Beyond Checkpoint Blockade//Annual Review of Cancer Biology, 2019, Vol. 3, No. 1., P. 55-75
33. Ohta A. A Metabolic Immune Checkpoint: Adenosine in Tumor Microenvironment//Frontiers in Immunology, 2016, Vol. 7., P. 109
34. Allard D., Turcotte M., Stagg J. Targeting A2 adenosine receptors in cancer//Immunology and Cell Biology, 2017, Vol. 95, No. 4, P. 333-339.
35. Altorki N.K., Markowitz G.J., Gao D., Port J.L., Saxena A., Stiles B., McGraw T., Mittal V. The lung microenvironment: an important regulator of tumour growth and metastasis//Nature Reviews Cancer, 2019, Vol. 19, No. 1, P. 9-31.

36. Sica A., Larghi P., Mancino A., Rubino L., Porta C., Totaro M.G., Rimoldi M., Biswas S.K., Allavena P., Mantovani A. Macrophage polarization in tumour progression//Seminars in Cancer Biology, 2008, Vol. 18, No. 5, P. 349-355.
37. Lewis C.E. Distinct Role of Macrophages in Different Tumor Microenvironments//Cancer Research, 2006, Vol. 66, No. 2, P. 605-612.
38. Gabrilovich D.I., Ostrand-Rosenberg S., Bronte V. Coordinated regulation of myeloid cells by tumours//Nature Reviews Immunology, 2012, Vol. 12, No. 4, P. 253-268.
39. Бережная Н.А. Роль клеток иммунитета в микроокружении опухоли. I. Клетки и цитокины - участники воспаления//Онкология, 2009, Том 11, № 1, с. 6-17.
40. Кжышковска Ю.Г., Стахеева М.Н., Литвяков Н.В., Савельева О.Е., Митрофаа Т.В. Иммунная система и эффективность противоопухолевого лечения / – Томск: Изд-во Том. ун-та, 2015. – 164 с.
41. Tang J., Shalabi A., Hubbard-Lucey V.M. Comprehensive analysis of the clinical immuno-oncology landscape//Annals of Oncology, 2018, Vol. 29, No. 1, P. 84-91.
42. Meyer J.-P. Use of bacille Calmette-Guerin in superficial bladder cancer//Postgraduate Medical Journal, 2002, Vol. 78, No. 922, P. 449-454.
43. Балдуева И.А. Противоопухолевые вакцины//Практическая онкология, 2003, Том 4, № 3, с. 157-166.
44. Чехун В.Ф. Противоопухолевые вакцины//Онкология, 2008, Том 10, № 2, с. 204-205.
45. Houot R., Schultz L.M., Marabelle A., Kohrt H. T-cell-based Immunotherapy: Adoptive Cell Transfer and Checkpoint Inhibition//Cancer Immunology Research, 2015, Vol. 3, No. 10, P. 1115-1122.

46. Киселева Я.Ю., Шишкин А.М., Иванов А.В., Кулинич Т.М., Боженко В.К. CAR-терапия солидных опухолей: перспективные подходы к модулированию противоопухолевой активности CAR-T-лимфоцитов//Вестник Российского государственного медицинского университета, 2019, № 5, с. 5-13.
47. Krishnamurthy A., Jimeno A. Bispecific antibodies for cancer therapy: A review//Pharmacology & Therapeutics, 2018, Vol. 185, Bispecific antibodies for cancer therapy, P. 122-134.
48. Lee S., Margolin K. Cytokines in Cancer Immunotherapy//Cancers, 2011, Vol. 3, No. 4, P. 3856-3893.
49. George S., Rini B.I., Hammers H.J. Emerging Role of Combination Immunotherapy in the First-line Treatment of Advanced Renal Cell Carcinoma: A Review//JAMA Oncology, 2019, Vol. 5, No. 3, P. 411-421.
50. Dempke W.C.M., Fenchel K., Uciechowski P., Dale S.P. Second- and third-generation drugs for immuno-oncology treatment—The more the better?//European Journal of Cancer, 2017, Vol. 74, P. 55-72.
51. Kenter M.J.H., Cohen A.F. The return of the prodigal son and the extraordinary development route of antibody TGN1412 - lessons for drug development and clinical pharmacology: Editorial//British Journal of Clinical Pharmacology, 2015, Vol. 79, No. 4, P. 545-547.
52. Rotte A., Jin J.Y., Lemaire V. Mechanistic overview of immune checkpoints to support the rational design of their combinations in cancer immunotherapy//Annals of Oncology, 2018, Vol. 29, No. 1, P. 71-83.
53. Волкова М.И., Гриднева Я.В., Ольшанская А.С. Иммуноterapia уротелиального рака: реалии и перспективы//Онкоурология, 2017, Том 13, № 4, с. 16-24.

54. Самойленко И.В., Демидов Л.В. Пембролизумаб в лечении метастатической меланомы//Медицинский совет, 2017, № 6, с. 8-23.
55. Fogt S., Shustova M., Demidov L.V., Moiseyenko V., Tjulandin S., Semiglazova T., Protsenko S., Odintsova S., Zukov R., Lazarev S., Makarova Y., Nechaeva M., Sakaeva D., Andreev A., Tarasova A., Fadeeva N., Gavrilova O., Ivanov R. Phase II trial (BCD-100-2/MIRACULUM) of the novel PD-1 inhibitor (BCD-100) in patients with advanced melanoma//Journal of Clinical Oncology, 2019, Vol. 37, No. 15\_suppl, P. 9549-9549.
56. Galluzzi L., Chan T.A., Kroemer G., Wolchok J.D., López-Soto A. The hallmarks of successful anticancer immunotherapy//Science Translational Medicine, 2018, Vol. 10, No. 459, P. eaat7807.
57. Brooks E.D., Chang J.Y. Time to abandon single-site irradiation for inducing abscopal effects//Nature Reviews Clinical Oncology, 2019, Vol. 16, No. 2, P. 123-135.
58. Банов С.М., Смолин А.В., Насхлеташвили Д.Р., Бекашев А.Х., Голанов А.В., Ветлова Е.Р. Таргетная терапия в сочетании с радиохирургией у пациентов с метастазами в головной мозг// Злокачественные опухоли, 2016, Том 4, № 1, с. 74-80.
59. Dovedi S.J., Cheadle E.J., Popple A.L., Poon E., Morrow M., Stewart R., Yusko E.C., Sanders C.M., Vignali M., Emerson R.O., Robins H.S., Wilkinson R.W., Honeychurch J., Illidge T.M. Fractionated Radiation Therapy Stimulates Antitumor Immunity Mediated by Both Resident and Infiltrating Polyclonal T-cell Populations when Combined with PD-1 Blockade//Clinical Cancer Research, 2017, Vol. 23, No. 18, P. 5514-5526.
60. Golden E.B., Apetoh L. Radiotherapy and Immunogenic Cell Death//Seminars in Radiation Oncology, 2015, Vol. 25, No. 1, P. 11-17.

61. Stone H.B., Peters L.J., Milas L. Effect of host immune capability on radiocurability and subsequent transplantability of a murine fibrosarcoma//Journal of the National Cancer Institute, 1979, Vol. 63, No. 5, P. 1229-1235.
62. Dovedi S.J., Adlard A.L., Lipowska-Bhalla G., McKenna C., Jones S., Cheadle E.J., Stratford I.J., Poon E., Morrow M., Stewart R., Jones H., Wilkinson R.W., Honeychurch J., Illidge T.M. Acquired Resistance to Fractionated Radiotherapy Can Be Overcome by Concurrent PD-L1 Blockade//Cancer Research, 2014, Vol. 74, No. 19, P. 5458-5468.
63. Sharma P., Hu-Lieskovan S., Wargo J.A., Ribas A. Primary, Adaptive, and Acquired Resistance to Cancer Immunotherapy//Cell, 2017, Vol. 168, No. 4, P. 707-723.
64. Mole R.H. Whole Body Irradiation—Radiobiology or Medicine?//The British Journal of Radiology, 1953, Vol. 26, No. 305, P. 234-241.
65. Demaria S., Ng B., Devitt M.L., Babb J.S., Kawashima N., Liebes L., Formenti S.C. Ionizing radiation inhibition of distant untreated tumors (abscopal effect) is immune mediated//International Journal of Radiation Oncology\*Biophysics, 2004, Vol. 58, No. 3, P. 862-870.
66. Naghavi A.O., Johnstone P.A.S., Kim S. Clinical trials exploring the benefit of immunotherapy and radiation in cancer treatment: A review of the past and a look into the future//Current Problems in Cancer, 2016, Vol. 40, No. 1, P. 38-67.
67. Antonia S.J., Villegas A., Daniel D., Vicente D., Murakami S., Hui R., Yokoi T., Chiappori A., Lee K.H., Wit M. de, Cho B.C., Bourhaba M., Quantin X., Tokito T., Mekhail T., Planchard D., Kim Y.-C., Karapetis C.S., Hirt S., Ostoros G., Kubota K., Gray J.E., Paz-Ares L., Castro Carpeño J. de, Wadsworth C., Melillo G., Jiang H., Huang Y., Dennis P.A., Özgüroğlu M. Durvalumab after Chemoradiotherapy in Stage III Non–Small-Cell Lung Cancer//New England Journal of Medicine, 2017, Vol. 377, No. 20, P. 1919-1929.

68. Ngwa W., Irabor O.C., Schoenfeld J.D., Hesser J., Demaria S., Formenti S.C. Using immunotherapy to boost the abscopal effect//*Nature Reviews Cancer*, 2018, Vol. 18, No. 5, P. 313-322.
69. Chandra R.A., Wilhite T.J., Balboni T.A., Alexander B.M., Spektor A., Ott P.A., Ng A.K., Hodi F.S., Schoenfeld J.D. A systematic evaluation of abscopal responses following radiotherapy in patients with metastatic melanoma treated with ipilimumab//*OncoImmunology*, 2015, Vol. 4, No. 11, P. e1046028.
70. Ribeiro Gomes J., Schmerling R.A., Haddad C.K., Racy D.J., Ferrigno R., Gil E., Zanuncio P., Buzaid A.C. Analysis of the Abscopal Effect With Anti-PD1 Therapy in Patients With Metastatic Solid Tumors://*Journal of Immunotherapy*, 2016, Vol. 39, No. 9, P. 367-372.
71. Robin T.P., Breeze R.E., Smith D.E., Rusthoven C.G., Lewis K.D., Gonzalez R., Brill A., Saiki R., Stuhr K., Gaspar L.E., Karam S.D., Raben D., Kavanagh B.D., Nath S.K., Liu A.K. Immune checkpoint inhibitors and radiosurgery for newly diagnosed melanoma brain metastases//*Journal of Neuro-Oncology*, 2018, Vol. 140, No. 1, P. 55-62.
72. An Y., Jiang W., Kim B.Y.S., Qian J.M., Tang C., Fang P., Logan J., D'Souza N.M., Haydu L.E., Wang X.A., Hess K.R., Kluger H., Glitza I.C., Mahajan A., Welsh J.W., Lin S.H., Yu J.B., Davies M.A., Hwu P., Sulman E.P., Brown P.D., Chiang V.L.S., Li J. Stereotactic radiosurgery of early melanoma brain metastases after initiation of anti-CTLA-4 treatment is associated with improved intracranial control//*Radiotherapy and Oncology*, 2017, Vol. 125, No. 1, P. 80-88.
73. Mathew M., Tam M., Ott P.A., Pavlick A.C., Rush S.C., Donahue B.R., Golfinos J.G., Parker E.C., Huang P.P., Narayana A. Ipilimumab in melanoma with limited brain metastases treated with stereotactic radiosurgery://*Melanoma Research*, 2013, Vol. 23, No. 3, P. 191-195.

74. Lugade A.A., Moran J.P., Gerber S.A., Rose R.C., Frelinger J.G., Lord E.M. Local Radiation Therapy of B16 Melanoma Tumors Increases the Generation of Tumor Antigen-Specific Effector Cells That Traffic to the Tumor//The Journal of Immunology, 2005, Vol. 174, No. 12, P. 7516-7523.
75. Никитин К.В. Локальные лучевые повреждения головного мозга после лучевой терапии и радиохирургии интракраниальных объемных образований: дисс. канд. мед. наук. НИИ нейрохирургии имени акад. Н.Н. Бурденко РАМН, Москва 2010.
76. Martin A.M., Cagney D.N., Catalano P.J., Alexander B.M., Redig A.J., Schoenfeld J.D., Aizer A.A. Immunotherapy and Symptomatic Radiation Necrosis in Patients With Brain Metastases Treated With Stereotactic Radiation//JAMA Oncology, 2018, Vol. 4, No. 8, P. 1123.
77. Kaidar-Person O., Zagar T.M., Deal A., Moschos S.J., Ewend M.G., Sasaki-Adams D., Lee C.B., Collichio F.A., Fried D., Marks L.B., Chera B.S. The incidence of radiation necrosis following stereotactic radiotherapy for melanoma brain metastases: the potential impact of immunotherapy//Anti-Cancer Drugs, 2017, Vol. 28, No. 6, P. 669-675.
78. Silk A.W., Bassetti M.F., West B.T., Tsien C.I., Lao C.D. Ipilimumab and radiation therapy for melanoma brain metastases//Cancer Medicine, 2013, Vol. 2, No. 6, P. 899-906.
79. Hubbeling H.G., Schapira E.F., Horick N.K., Goodwin K.E.H., Lin J.J., Oh K.S., Shaw A.T., Mehan W.A., Shih H.A., Gainor J.F. Safety of Combined PD-1 Pathway Inhibition and Intracranial Radiation Therapy in Non-Small Cell Lung Cancer//Journal of Thoracic Oncology, 2018, Vol. 13, No. 4, P. 550-558.
80. Ko E.C., Benjamin K.T., Formenti S.C. Generating antitumor immunity by targeted radiation therapy: Role of dose and fractionation//Advances in Radiation Oncology, 2018, Vol. 3, No. 4, P. 486-493.

81. Kang J., Demaria S., Formenti S. Current clinical trials testing the combination of immunotherapy with radiotherapy//*Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 2016, Vol. 4, No. 4., P.51.
82. Scheuenpflug J. Precision Medicine in Oncology and Immuno-Oncology: Where We Stand and Where We're Headed//*Biomedicine Hub*, 2017, Vol. 2, No. 1, P. 18-18.
83. Mosely S.I.S., Prime J.E., Sainson R.C.A., Koopmann J.-O., Wang D.Y.Q., Greenawalt D.M., Ahdesmaki M.J., Leyland R., Mullins S., Pacelli L., Marcus D., Anderton J., Watkins A., Coates Ulrichsen J., Brohawn P., Higgs B.W., McCourt M., Jones H., Harper J.A., Morrow M., Valge-Archer V., Stewart R., Dovedi S.J., Wilkinson R.W. Rational Selection of Syngeneic Preclinical Tumor Models for Immunotherapeutic Drug Discovery//*Cancer Immunology Research*, 2017, Vol. 5, No. 1, P. 29-41.
84. Lechner M.G., Karimi S.S., Barry-Holson K., Angell T.E., Murphy K.A., Church C.H., Ohlfest J.R., Hu P., Epstein A.L. Immunogenicity of Murine Solid Tumor Models as a Defining Feature of In Vivo Behavior and Response to Immunotherapy://*Journal of Immunotherapy*, 2013, Vol. 36, No. 9, P. 477-489.
85. Yu J.W., Bhattacharya S., Yanamandra N., Kilian D., Shi H., Yadavilli S., Katlinskaya Y., Kaczynski H., Conner M., Benson W., Hahn A., Seestaller-Wehr L., Bi M., Vitali N.J., Tsvetkov L., Halsey W., Hughes A., Traini C., Zhou H., Jing J., Lee T., Figueroa D.J., Brett S., Hopson C.B., Smothers J.F., Hoos A., Srinivasan R. Tumor-immune profiling of murine syngeneic tumor models as a framework to guide mechanistic studies and predict therapy response in distinct tumor microenvironments//*PLOS ONE*, 2018, Vol. 13, No. 11, P. e0206223.
86. Clark D.P. Biomarkers for immune checkpoint inhibitors: The importance of tumor topography and the challenges to cytopathology: Biomarkers for Checkpoint Inhibitors//*Cancer Cytopathology*, 2018, Vol. 126, No. 1, P. 11-19.

87. Wargo J.A., Reddy S.M., Reuben A., Sharma P. Monitoring immune responses in the tumor microenvironment//*Current Opinion in Immunology*, 2016, Vol. 41, P. 23-31.
88. Mehnert J.M., Monjazeб A.M., Beerthuijzen J.M.T., Collyar D., Rubinstein L., Harris L.N. The Challenge for Development of Valuable Immuno-oncology Biomarkers//*Clinical Cancer Research*, 2017, Vol. 23, No. 17, P. 4970-4979.
89. Gibney G.T., Weiner L.M., Atkins M.B. Predictive biomarkers for checkpoint inhibitor-based immunotherapy//*The Lancet Oncology*, 2016, Vol. 17, No. 12, P. e542-e551.
90. Lesterhuis W.J., Bosco A., Millward M.J., Small M., Nowak A.K., Lake R.A. Dynamic versus static biomarkers in cancer immune checkpoint blockade: unravelling complexity//*Nature Reviews Drug Discovery*, 2017, Vol. 16, No. 4, P. 264-272.
91. Italiani P., Boraschi D. From Monocytes to M1/M2 Macrophages: Phenotypical vs. Functional Differentiation//*Frontiers in Immunology*, 2014, Vol. 5., P. 514.
92. Araujo R. A history of the study of solid tumour growth: the contribution of mathematical modelling//*Bulletin of Mathematical Biology*, 2004, Vol. 66, No. 5, P. 1039-1091.
93. Nguyen T.H.T., Mouksassi M.-S., Holford N., Al-Huniti N., Freedman I., Hooker A.C., John J., Karlsson M.O., Mould D.R., Pérez Ruixo J.J., Plan E.L., Savic R., Hasselt J.G.C. van, Weber B., Zhou C., Comets E., Mentré F., for the Model Evaluation Group of the International Society of Pharmacometrics (ISoP) Best Practice Committee Model Evaluation of Continuous Data Pharmacometric Models: Metrics and Graphics: Evaluation Graphs for Population PK/PD Models//*CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology*, 2017, Vol. 6, No. 2, P. 87-109.
94. Платова А.В., Сергеева С.А., Мирошниченко И.И. Популяционная фармакокинетика: состояние и перспективы//*Ремедиум*, 2014, Том. 1, № 2, с. 18-20.

95. Folcik V.A., An G.C., Orosz C.G. The Basic Immune Simulator: An agent-based model to study the interactions between innate and adaptive immunity//Theoretical Biology and Medical Modelling, 2007, Vol. 4, No. 1, P. 39.
96. Chiacchio F., Pennisi M., Russo G., Motta S., Pappalardo F. Agent-Based Modeling of the Immune System: NetLogo, a Promising Framework//BioMed Research International, 2014, Vol. 2014, P. 1-6.
97. Vaidya V.G., Alexandro F.J. Evaluation of some mathematical models for tumor growth//International Journal of Bio-Medical Computing, 1982, Vol. 13, No. 1, P. 19-36.
98. Norton L., Simon R. Tumor size, sensitivity to therapy, and design of treatment schedules//Cancer Treatment Reports, 1977, Vol. 61, No. 7, P. 1307-1317.
99. Michor F., Beal K. Improving Cancer Treatment via Mathematical Modeling: Surmounting the Challenges Is Worth the Effort//Cell, 2015, Vol. 163, No. 5, P. 1059-1063.
100. Столобов А.В., Заляялов И.Ф. Радиобиологические модели и клиническая радиационная онкология//Онкология. Журнал им. Герцена, 2016, Том 5, № 6, с. 88.
101. Enderling H., Chaplain M.A.J., Hahnfeldt P. Quantitative Modeling of Tumor Dynamics and Radiotherapy//Acta Biotheoretica, 2010, Vol. 58, No. 4, P. 341-353.
102. Труфанов Г.Е., Асатурян М.А., Жаринов Г.М. Лучевая терапия. Том 2. / ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 192 с.
103. Brenner D.J., Hlatky L.R., Hahnfeldt P.J., Huang Y., Sachs R.K. The Linear-Quadratic Model and Most Other Common Radiobiological Models Result in Similar Predictions of Time-Dose Relationships//Radiation Research, 1998, Vol. 150, No. 1, P. 83.

104. Douglas B.G., Fowler J.F. The effect of multiple small doses of x rays on skin reactions in the mouse and a basic interpretation//Radiation Research, 1976, Vol. 66, No. 2, P. 401-426.
105. Brenner D.J. The Linear-Quadratic Model Is an Appropriate Methodology for Determining Isoeffective Doses at Large Doses Per Fraction//Seminars in Radiation Oncology, 2008, Vol. 18, No. 4, P. 234-239.
106. Молчанова Е.В. Применение LQ-модели и ее модификаций для планирования лучевой терапии опухолевых заболеваний//Альманах клинической медицины, 2008, № 17, с. 354-357.
107. Ribba B., Colin T., Schnell S. A multiscale mathematical model of cancer, and its use in analyzing irradiation therapies//Theoretical Biology & Medical Modelling, 2006, Vol. 3, P. 7.
108. Beck-Bornholdt H.-P. Current Topics in Clinical Radiobiology of Tumors / LQM limitations. – Berlin: Springer-Verlag, 1993, 153 P.
109. Courdi A. High doses per fraction and the linear-quadratic model//Radiotherapy and Oncology, 2010, Vol. 94, No. 1, P. 121-122.
110. Leder K., Pitter K., LaPlant Q., Hambarzumyan D., Ross B.D., Chan T.A., Holland E.C., Michor F. Mathematical Modeling of PDGF-Driven Glioblastoma Reveals Optimized Radiation Dosing Schedules//Cell, 2014, Vol. 156, No. 3, P. 603-616.
111. Rockne R., Alvord E.C., Rockhill J.K., Swanson K.R. A mathematical model for brain tumor response to radiation therapy//Journal of Mathematical Biology, 2009, Vol. 58, No. 4-5, P. 561-578.

112. Emami B., Lyman J., Brown A., Cola L., Goitein M., Munzenrider J.E., Shank B., Solin L.J., Wesson M. Tolerance of normal tissue to therapeutic irradiation//International Journal of Radiation Oncology\*Biophysics, 1991, Vol. 21, No. 1, P. 109-122.
113. Lai X., Friedman A. Combination therapy for melanoma with BRAF/MEK inhibitor and immune checkpoint inhibitor: a mathematical model//BMC Systems Biology, 2017, Vol. 11, No. 1. P. 70.
114. Fernandez M., Zhou M., Soto-Ortiz L. A Computational Assessment of the Robustness of Cancer Treatments with Respect to Immune Response Strength, Tumor Size and Resistance//International Journal of Tumor Therapy, 2018, Vol. 7, No. 1, P. 1-26.
115. Pillis L.G. de, Radunskaya A.E., Wiseman C.L. A Validated Mathematical Model of Cell-Mediated Immune Response to Tumor Growth//Cancer Research, 2005, Vol. 65, No. 17, P. 7950-7958.
116. Poleszczuk J.T., Luddy K.A., Prokopiou S., Robertson-Tessi M., Moros E.G., Fishman M., Djeu J.Y., Finkelstein S.E., Enderling H. Abscopal Benefits of Localized Radiotherapy Depend on Activated T-cell Trafficking and Distribution between Metastatic Lesions//Cancer Research, 2016, Vol. 76, No. 5, P. 1009-1018.
117. Peng H., Zhao W., Tan H., Ji Z., Li J., Li K., Zhou X. Prediction of treatment efficacy for prostate cancer using a mathematical model//Scientific Reports, 2016, Vol. 6, No. 1., P. 21599.
118. Riggs T., Walts A., Perry N., Bickle L., Lynch J.N., Myers A., Flynn J., Linderman J.J., Miller M.J., Kirschner D.E. A comparison of random vs. chemotaxis-driven contacts of T cells with dendritic cells during repertoire scanning//Journal of Theoretical Biology, 2008, Vol. 250, No. 4, P. 732-751.

119. Vroomans R.M.A., Marée A.F.M., Boer R.J. de, Beltman J.B. Chemotactic Migration of T Cells towards Dendritic Cells Promotes the Detection of Rare Antigens//*PLoS Computational Biology*, 2012, Vol. 8, No. 11, P. e1002763.
120. Linderman J.J., Riggs T., Pande M., Miller M., Marino S., Kirschner D.E. Characterizing the Dynamics of CD4+ T Cell Priming within a Lymph Node//*The Journal of Immunology*, 2010, Vol. 184, No. 6, P. 2873-2885.
121. Gong C., Mattila J.T., Miller M., Flynn J.L., Linderman J.J., Kirschner D. Predicting lymph node output efficiency using systems biology//*Journal of Theoretical Biology*, 2013, Vol. 335, P. 169-184.
122. Kather J.N., Poleszczuk J., Suarez-Carmona M., Krisam J., Charoentong P., Valous N.A., Weis C.-A., Tavernar L., Leiss F., Herpel E., Klupp F., Ulrich A., Schneider M., Marx A., Jäger D., Halama N. In Silico Modeling of Immunotherapy and Stroma-Targeting Therapies in Human Colorectal Cancer//*Cancer Research*, 2017, Vol. 77, No. 22, P. 6442-6452.
123. Parra-Guillen Z.P., Berraondo P., Grenier E., Ribba B., Troconiz I.F. Mathematical Model Approach to Describe Tumour Response in Mice After Vaccine Administration and its Applicability to Immune-Stimulatory Cytokine-Based Strategies//*The AAPS Journal*, 2013, Vol. 15, No. 3, P. 797-807.
124. Parra-Guillen Z.P., Berraondo P., Ribba B., Troconiz I.F. Modeling Tumor Response after Combined Administration of Different Immune-Stimulatory Agents//*Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2013, Vol. 346, No. 3, P. 432-442.
125. Serre R., Benzekry S., Padovani L., Meille C., Andre N., Ciccolini J., Barlesi F., Muracciole X., Barbolosi D. Mathematical Modeling of Cancer Immunotherapy and Its Synergy with Radiotherapy//*Cancer Research*, 2016, Vol. 76, No. 17, P. 4931-4940.

126. Lindauer A., Valiathan C., Mehta K., Sriram V., Greef R. de, Elassaiss-Schaap J., Alwis D. de Translational Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Modeling of Tumor Growth Inhibition Supports Dose-Range Selection of the Anti-PD-1 Antibody Pembrolizumab: Translational Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Modeling//CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology, 2017, Vol. 6, No. 1, P. 11-20.
127. Ribba B., Boetsch C., Nayak T., Grimm H.P., Charo J., Evers S., Klein C., Tessier J., Charoin J.E., Phipps A., Pisa P., Teichgräber V. Prediction of the Optimal Dosing Regimen Using a Mathematical Model of Tumor Uptake for Immunocytokine-Based Cancer Immunotherapy//Clinical Cancer Research, 2018, Vol. 24, No. 14, P. 3325-3333.
128. Olson B., Li Y., Lin Y., Liu E.T., Patnaik A. Mouse Models for Cancer Immunotherapy Research//Cancer Discovery, 2018, Vol. 8, No. 11, P. 1358-1365.
129. Tomayko M.M., Reynolds C.P. Determination of subcutaneous tumor size in athymic (nude) mice//Cancer Chemotherapy and Pharmacology, 1989, Vol. 24, No. 3, P. 148-154.
130. Hather G., Liu R., Bandi S., Mettetal J., Manfredi M., Shyu W.-C., Donelan J., Chakravarty A. Growth Rate Analysis and Efficient Experimental Design for Tumor Xenograft Studies: Supplementary Issue: Array Platform Modeling and Analysis (A)//Cancer Informatics, 2014, Vol. 13s4, P. CIN.S13974.
131. Guo S., Jiang X., Mao B., Li Q.-X. The design, analysis and application of mouse clinical trials in oncology drug development//BMC Cancer, 2019, Vol. 19, No. 1, P. 718.
132. Comets E., Lavenu A., Lavielle M. Parameter Estimation in Nonlinear Mixed Effect Models Using saemix, an R Implementation of the SAEM Algorithm//Journal of Statistical Software, 2017, Vol. 80, No. 3.
133. Tornøe C.W., Agersø H., Jonsson E.N., Madsen H., Nielsen H.A. Non-linear mixed-effects pharmacokinetic/pharmacodynamic modelling in NLME using differential

equations//Computer Methods and Programs in Biomedicine, 2004, Vol. 76, No. 1, P. 31-40.

134. Pinheiro J. Model building using covariates in nonlinear mixed-effects models//Journal de la société française de statistique, 2002, Vol. 143, No. 1-2, P. 79-101.

135. Бондарева И.Б. Математическое моделирование в фармакокинетике и фармакодинамике / И.Б. Бондарева. – 2001. Автореф. дис. на соиск. учен. степ. д.б.н. Спец. 14.00.25 Спец. 05.13.18; Москва, 2001. - 48 с.

136. Омеляновский В.В., Авксентьева М.В., Сура М.В., Хачатрян Г.Р., Федяева В.К. Методические рекомендации по проведению мета-анализа, Москва, 2017. - 28 с.

137. Stroup D.F., Berlin J.A., Morton S.C., Olkin I., Williamson G.D., Rennie D., Moher D., Becker B.J., Sipe T.A., Thacker S.B. Meta-analysis of observational studies in epidemiology: a proposal for reporting. Meta-analysis Of Observational Studies in Epidemiology (MOOSE) group//JAMA, 2000, Vol. 283, No. 15, P. 2008-2012.

138. Moher D., Liberati A., Tetzlaff J., Altman D.G. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement//Journal of Clinical Epidemiology, 2009, Vol. 62, No. 10, P. 1006-1012.

139. Тихомирова А.В. Критерии оценки клинической эффективности противоопухолевых лекарственных препаратов//Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения, 2019, Том 9, № 1, с. 34-40.

140. Деньгина Н.В., Родионов В.В. Основы лучевой терапии злокачественных новообразований / – Ульяновск: УлГУ, 2013. – 87 с.

141. Абрамович М.С., Савва Н.Н. Статистический анализ данных в медицинских исследованиях / – Минск: МГЭУ им. А.Д. Сахарова, 2014. – Ч. I. – 127 с.

142. Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях / – ГЭОТАР-Медиа, Москва, 2006, 304 с.
143. Borenstein M., Hedges L.V., Higgins J.P.T., Rothstein H.R. A basic introduction to fixed-effect and random-effects models for meta-analysis//Research Synthesis Methods, 2010, Vol. 1, No. 2, P. 97-111.
144. Viechtbauer W. Conducting Meta-Analyses in R with the metafor Package//Journal of Statistical Software, 2010, Vol. 36, No. 3.
145. R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/> / R.
146. Zappasodi R., Merghoub T., Wolchok J.D. Emerging Concepts for Immune Checkpoint Blockade-Based Combination Therapies//Cancer Cell, 2018, Vol. 33, No. 4, P. 581-598.
147. Restifo N.P. Big bang theory of stem-like T cells confirmed//Blood, 2014, Vol. 124, No. 4, P. 476-477.
148. Watanabe Y., Dahlman E.L., Leder K.Z., Hui S.K. A mathematical model of tumor growth and its response to single irradiation//Theoretical Biology and Medical Modelling, 2016, Vol. 13, No. 1, P. 6.
149. Selby M.J., Engelhardt J.J., Quigley M., Henning K.A., Chen T., Srinivasan M., Korman A.J. Anti-CTLA-4 Antibodies of IgG2a Isotype Enhance Antitumor Activity through Reduction of Intratumoral Regulatory T Cells//Cancer Immunology Research, 2013, Vol. 1, No. 1, P. 32-42.
150. Kim P.S., Lee P.P., Levy D. Modeling regulation mechanisms in the immune system//Journal of Theoretical Biology, 2007, Vol. 246, No. 1, P. 33-69.

151. Thompson E.D., Enriquez H.L., Fu Y.-X., Engelhard V.H. Tumor masses support naive T cell infiltration, activation, and differentiation into effectors//The Journal of Experimental Medicine, 2010, Vol. 207, No. 8, P. 1791-1804.
152. Kokolus K.M., Capitano M.L., Lee C.-T., Eng J.W.-L., Waight J.D., Hylander B.L., Sexton S., Hong C.-C., Gordon C.J., Abrams S.I., Repasky E.A. Baseline tumor growth and immune control in laboratory mice are significantly influenced by subthermoneutral housing temperature//Proceedings of the National Academy of Sciences, 2013, Vol. 110, No. 50, P. 20176-20181.
153. Liang H., Deng L., Chmura S., Burnette B., Liadis N., Darga T., Beckett M.A., Lingen M.W., Witt M., Weichselbaum R.R., Fu Y.-X. Radiation-Induced Equilibrium Is a Balance between Tumor Cell Proliferation and T Cell-Mediated Killing//The Journal of Immunology, 2013, Vol. 190, No. 11, P. 5874-5881.
154. Gowrishankar K., Gunatilake D., Gallagher S.J., Tiffen J., Rizos H., Hersey P. Inducible but Not Constitutive Expression of PD-L1 in Human Melanoma Cells Is Dependent on Activation of NF- $\kappa$ B//PLOS ONE, 2015, Vol. 10, No. 4, P. e0123410.
155. Sachs R.K., Hlatky L.R., Hahnfeldt P. Simple ODE models of tumor growth and anti-angiogenic or radiation treatment//Mathematical and Computer Modelling, 2001, Vol. 33, No. 12-13, P. 1297-1305.
156. Williams M.V., Denekamp J., Fowler J.F. A review of alpha/beta ratios for experimental tumors: implications for clinical studies of altered fractionation//International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics, 1985, Vol. 11, No. 1, P. 87-96.
157. Maute R.L., Gordon S.R., Mayer A.T., McCracken M.N., Natarajan A., Ring N.G., Kimura R., Tsai J.M., Manglik A., Kruse A.C., Gambhir S.S., Weissman I.L., Ring A.M. Engineering high-affinity PD-1 variants for optimized immunotherapy and immuno-PET

imaging//Proceedings of the National Academy of Sciences, 2015, Vol. 112, No. 47, P. E6506-E6514.

158. Asaithamby A., Chen D.J. Cellular responses to DNA double-strand breaks after low-dose -irradiation//Nucleic Acids Research, 2009, Vol. 37, No. 12, P. 3912-3923.

159. Заботина Т.Н., Короткова О.В., Борунова А.А., Табаков Д.В., Бокин И.И., Панченко И.В., Савостикова М.В., Самойленко И.В., Циклаури В.Т., Хакимова Ш.Г., Кадагидзе З.Г. Многопараметрическое исследование иммунофенотипа лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль, у онкологических больных//Российский онкологический журнал, 2016, Том 21, № 1-2, с. 51-54.

160. Guo L., Song P., Xue X., Guo C., Han L., Fang Q., Ying J., Gao S., Li W. Variation of Programmed Death Ligand 1 Expression After Platinum-based Neoadjuvant Chemotherapy in Lung Cancer://Journal of Immunotherapy, 2019, Vol. 42, No. 6, P. 215-220.

161. Le D.T., Uram J.N., Wang H., Bartlett B.R., Kemberling H., Eyring A.D., Skora A.D., Luber B.S., Azad N.S., Laheru D., Biedrzycki B., Donehower R.C., Zaheer A., Fisher G.A., Crocenzi T.S., Lee J.J., Duffy S.M., Goldberg R.M., Chapelle A. de la, Koshiji M., Bhaijee F., Hübner T., Hruban R.H., Wood L.D., Cuka N., Pardoll D.M., Papadopoulos N., Kinzler K.W., Zhou S., Cornish T.C., Taube J.M., Anders R.A., Eshleman J.R., Vogelstein B., Diaz L.A. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency//New England Journal of Medicine, 2015, Vol. 372, No. 26, P. 2509-2520.

162. Pagès F., Mlecnik B., Marliot F., Bindea G., Ou F.-S., Galon J., et al. International validation of the consensus Immunoscore for the classification of colon cancer: a prognostic and accuracy study//The Lancet, 2018, Vol. 391, International validation of the consensus Immunoscore for the classification of colon cancer, No. 10135, P. 2128-2139.

163. Tumei P.C., Harview C.L., Yearley J.H., Shintaku I.P., Taylor E.J.M., Robert L., Chmielowski B., Spasic M., Henry G., Ciobanu V., West A.N., Carmona M., Kivork C.,

Seja E., Cherry G., Gutierrez A.J., Grogan T.R., Mateus C., Tomasic G., Glaspy J.A., Emerson R.O., Robins H., Pierce R.H., Elashoff D.A., Robert C., Ribas A. PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance//*Nature*, 2014, Vol. 515, No. 7528, P. 568-571.

164. Юдин Д.И., Лактионов К.К., Саранцева К.А., Бредер В.В., Реутова Е.В., Борисова О.И., Ардзинба М.С. Псевдопрогрессирование на фоне иммунотерапии//*Medical Council*, 2019, № 10, с. 10-14.

165. Overgaard N.H., Fan T.M., Schachtschneider K.M., Principe D.R., Schook L.B., Jungersen G. Of Mice, Dogs, Pigs, and Men: Choosing the Appropriate Model for Immunology Research//*ILAR Journal*, 2018, Vol. 59, Of Mice, Dogs, Pigs, and Men, No. 3, P. 247-262.

166. Gerber N.K., Young R.J., Barker C.A., Wolchok J.D., Chan T.A., Yamada Y., Friguglietti L., Beal K. Ipilimumab and whole brain radiation therapy for melanoma brain metastases//*Journal of Neuro-Oncology*, 2015, Vol. 121, No. 1, P. 159-165.

167. Olson A.C., Patel K., Mowery Y.M., Wynne J., Ready N., Kirkpatrick J.P., Salama A.K., Khan M.K. Anti-PD-1 Therapy and Stereotactic Radiation for Melanoma and Non-Small Cell Lung Cancer Patients with Brain Metastases: A 2-Institution Series//*International Journal of Radiation Oncology\*Biography\*Physics*, 2016, Vol. 96, No. 2, P. E97-E98.

168. Khoja L., Kurtz G., Bernstein M., Joshua A.M., Hogg D., Zadeh G., Laperriere N., Menard C., Miller B.-A., Kongkham P.N., Atenafu E.G., Butler M.O., Chung C. Brain radiosurgery and ipilimumab (Ipi) in melanoma brain metastases (MBM) patients: Does an enhanced immune response induce radionecrosis (RN)?//*Journal of Clinical Oncology*, 2015, Vol. 33, Brain radiosurgery and ipilimumab (Ipi) in melanoma brain metastases (MBM) patients, No. 15\_suppl, P. e20019-e20019.

169. Ahmed K.A., Stallworth D.G., Kim Y., Johnstone P.A.S., Harrison L.B., Caudell J.J., Yu H.H.M., Etame A.B., Weber J.S., Gibney G.T. Clinical outcomes of melanoma brain metastases treated with stereotactic radiation and anti-PD-1 therapy//*Annals of Oncology*, 2016, Vol. 27, No. 3, P. 434-441.
170. Chen L., Douglass J., Kleinberg L., Ye X., Marciscano A.E., Forde P.M., Brahmer J., Lipson E., Sharfman W., Hammers H., Naidoo J., Bettegowda C., Lim M., Redmond K.J. Concurrent Immune Checkpoint Inhibitors and Stereotactic Radiosurgery for Brain Metastases in Non-Small Cell Lung Cancer, Melanoma, and Renal Cell Carcinoma//*International Journal of Radiation Oncology\*Biology\*Physics*, 2018, Vol. 100, No. 4, P. 916-925.
171. Acharya S., Mahmood M., Mullen D., Yang D., Tsien C.I., Huang J., Perkins S.M., Rich K., Chicoine M., Leuthardt E., Dowling J., Dunn G., Keller J., Robinson C.G., Abraham C. Distant intracranial failure in melanoma brain metastases treated with stereotactic radiosurgery in the era of immunotherapy and targeted agents//*Advances in Radiation Oncology*, 2017, Vol. 2, No. 4, P. 572-580.
172. Parakh S., Park J.J., Mendis S., Rai R., Xu W., Lo S., Drummond M., Rowe C., Wong A., McArthur G., Haydon A., Andrews M.C., Cebon J., Guminski A., Kefford R.F., Long G.V., Menzies A.M., Klein O., Carlino M.S. Efficacy of anti-PD-1 therapy in patients with melanoma brain metastases//*British Journal of Cancer*, 2017, Vol. 116, No. 12, P. 1558-1563.
173. Du Four S., Janssen Y., Michotte A., Van Binst A.-M., Van den Begin R., Duerinck J., Neyns B. Focal radiation necrosis of the brain in patients with melanoma brain metastases treated with pembrolizumab//*Cancer Medicine*, 2018, Vol. 7, No. 10, P. 4870-4879.
174. Goel A., Kumar R.J., Linam J.M., Huang A.J., Abendroth R.E., Lee J.W., Andrews B., Leong S., Leng L.Z., Minor D., Nosrati M., Vosoughi E., Miller J., Kashani-Sabet M., Kim

K. Impact of Anti-PD-1 Treatment in Patients with Metastatic Melanoma Brain Lesions Treated with Stereotactic Radiosurgery//International Journal of Radiation Oncology\*Biography\*Physics, 2017, Vol. 99, No. 2, P. E75.

175. Stokes W.A., Binder D.C., Jones B.L., Oweida A.J., Liu A.K., Rusthoven C.G., Karam S.D. Impact of immunotherapy among patients with melanoma brain metastases managed with radiotherapy//Journal of Neuroimmunology, 2017, Vol. 313, P. 118-122.

176. Schapira E., Hubbeling H., Yeap B.Y., Mehan W.A., Shaw A.T., Oh K., Gainor J.F., Shih H.A. Improved Overall Survival and Locoregional Disease Control With Concurrent PD-1 Pathway Inhibitors and Stereotactic Radiosurgery for Lung Cancer Patients With Brain Metastases//International Journal of Radiation Oncology\*Biography\*Physics, 2018, Vol. 101, No. 3, P. 624-629.

177. Skrepnik T., Sundararajan S., Cui H., Stea B. Improved time to disease progression in the brain in patients with melanoma brain metastases treated with concurrent delivery of radiosurgery and ipilimumab//OncoImmunology, 2017, Vol. 6, No. 3, P. e1283461.

178. Pires da Silva I., Glitza I.C., Haydu L.E., Johnpulle R., Banks P.D., Grass G.D., Goldinger S.M., Smith J.L., Everett A.S., Koelblinger P., Roberts-Thomson R., Millward M., Atkinson V.G., Guminski A., Kapoor R., Conry R.M., Carlino M.S., Wang W., Shackleton M.J., Eroglu Z., Lo S., Hong A.M., Long G.V., Johnson D.B., Menzies A.M. Incidence, features and management of radionecrosis in melanoma patients treated with cerebral radiotherapy and anti-PD-1 antibodies//Pigment Cell & Melanoma Research, 2019. Vol. 32, No. 4, P.553-563.

179. Patel K.R., Shoukat S., Oliver D.E., Chowdhary M., Rizzo M., Lawson D.H., Khosa F., Liu Y., Khan M.K. Ipilimumab and Stereotactic Radiosurgery Versus Stereotactic Radiosurgery Alone for Newly Diagnosed Melanoma Brain Metastases://American Journal of Clinical Oncology, 2017, Vol. 40, No. 5, P. 444-450.

180. Mortier L., Jamme P., Lacour J.P., Robert C., Lesimple T., Thomas L., Machet L., Saiag P., Lebbe C., Dutriaux C., Grob J.-J., Duhamel A., Desmedt E., Templier C., Mirabel X., Reyns N., Le Rhun E. Ipilimumab combined with stereotactic radiosurgery in melanoma patients with brain metastases: A multicenter, open label, phase 2 trial.//*Journal of Clinical Oncology*, 2018, Vol. 36, No. 15\_suppl, P. 9520-9520.
181. Anderson E.S., Postow M.A., Wolchok J.D., Young R.J., Ballangrud Å., Chan T.A., Yamada Y., Beal K. Melanoma brain metastases treated with stereotactic radiosurgery and concurrent pembrolizumab display marked regression; efficacy and safety of combined treatment//*Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 2017, Vol. 5, No. 1, P.76.
182. Burke A.M., Carrasquilla M., Tefera E., Jean W.C., Collins B.T., Anaizi A.N., Gibney G.T., Atkins M.B., Collins S.P. (OA15) Clinical Outcomes of Patients With Melanoma Brain Metastases Treated With Stereotactic Radiosurgery and Immunotherapy//*International Journal of Radiation Oncology\*Biophysics*, 2018, Vol. 101, No. 2, P. e7.
183. Ahmed K.A., Kim S., Arrington J., Naghavi A.O., Dilling T.J., Creelan B.C., Antonia S.J., Caudell J.J., Harrison L.B., Sahebjam S., Gray J.E., Etame A.B., Johnstone P.A., Yu M., Perez B.A. Outcomes targeting the PD-1/PD-L1 axis in conjunction with stereotactic radiation for patients with non-small cell lung cancer brain metastases//*Journal of Neuro-Oncology*, 2017, Vol. 133, No. 2, P. 331-338.
184. Yusuf M.B., Amsbaugh M.J., Burton E., Chesney J., Woo S. Peri-SRS Administration of Immune Checkpoint Therapy for Melanoma Metastatic to the Brain: Investigating Efficacy and the Effects of Relative Treatment Timing on Lesion Response//*World Neurosurgery*, 2017, Vol. 100, P. 632-640.e4.
185. Williams N.L., Wuthrick E.J., Kim H., Palmer J.D., Garg S., Eldredge-Hindy H., Daskalakis C., Feeney K.J., Mastrangelo M.J., Kim L.J., Sato T., Kendra K.L., Olencki T., Liebner D.A., Farrell C.J., Evans J.J., Judy K.D., Andrews D.W., Dicker A.P., Werner-

Wasik M., Shi W. Phase 1 Study of Ipilimumab Combined With Whole Brain Radiation Therapy or Radiosurgery for Melanoma Patients With Brain Metastases//International Journal of Radiation Oncology\*Biology\*Physics, 2017, Vol. 99, No. 1, P. 22-30.

186. Fang P., Jiang W., Allen P., Glitza I., Guha N., Hwu P., Ghia A., Phan J., Mahajan A., Tawbi H., Li J. Radiation necrosis with stereotactic radiosurgery combined with CTLA-4 blockade and PD-1 inhibition for treatment of intracranial disease in metastatic melanoma//Journal of Neuro-Oncology, 2017, Vol. 133, No. 3, P. 595-602.

187. Knisely J.P.S., Yu J.B., Flanigan J., Sznol M., Kluger H.M., Chiang V.L.S. Radiosurgery for melanoma brain metastases in the ipilimumab era and the possibility of longer survival//Journal of Neurosurgery, 2012, P. 227-233.

188. Johnson C.B., Postow M.A., Chapman P., Wolchok J.D., Brennan C.W., Tabar V.S., Chan T.A., Yamada Y., Yang T.J., Beal K. Safety and Clinical Outcomes of Ipilimumab and Nivolumab Plus Concurrent Stereotactic Radiosurgery for Brain Metastases//International Journal of Radiation Oncology\*Biology\*Physics, 2018, Vol. 102, No. 3, P. e228.

189. Gabani P., Fischer-Valuck B.W., Johanns T.M., Hernandez-Aya L.F., Keller J.W., Rich K.M., Kim A.H., Dunn G.P., Robinson C.G., Chicoine M.R., Huang J., Abraham C.D. Stereotactic radiosurgery and immunotherapy in melanoma brain metastases: Patterns of care and treatment outcomes//Radiotherapy and Oncology, 2018, Vol. 128, No. 2, P. 266-273.

190. Diao K., Bian S.X., Routman D.M., Yu C., Ye J.C., Wagle N.A., Wong M.K., Zada G., Chang E.L. Stereotactic radiosurgery and ipilimumab for patients with melanoma brain metastases: clinical outcomes and toxicity//Journal of Neuro-Oncology, 2018, Vol. 139, Stereotactic radiosurgery and ipilimumab for patients with melanoma brain metastases, No. 2, P. 421-429.

191. Kiess A.P., Wolchok J.D., Barker C.A., Postow M.A., Tabar V., Huse J.T., Chan T.A., Yamada Y., Beal K. Stereotactic Radiosurgery for Melanoma Brain Metastases in Patients Receiving Ipilimumab: Safety Profile and Efficacy of Combined Treatment//International Journal of Radiation Oncology\*Biology\*Physics, 2015, Vol. 92, No. 2, P. 368-375.
192. Kotecha R., Kim J.M., Miller J.A., Chao S.T., Mohammadi A.M., Peereboom D., Murphy E.S., Suh J.H., Barnett G.H., Vogelbaum M.A., Angelov L., Ahluwalia M. Stereotactic Radiosurgery (SRS) with Immune Checkpoint Inhibitor Therapy (ICI) for Patients with Brain Metastasis (BM): The Impact of Timing and Sequencing//International Journal of Radiation Oncology\*Biology\*Physics, 2018, Vol. 102, Stereotactic Radiosurgery (SRS) with Immune Checkpoint Inhibitor Therapy (ICI) for Patients with Brain Metastasis (BM), No. 3, P. e345-e346.
193. Gaudy-Marqueste C., Dussouil A.S., Carron R., Troin L., Malissen N., Loundou A., Monestier S., Mallet S., Richard M.A., Régis J.M., Grob J.J. Survival of melanoma patients treated with targeted therapy and immunotherapy after systematic upfront control of brain metastases by radiosurgery//European Journal of Cancer, 2017, Vol. 84, P. 44-54.
194. Tazi K., Hathaway A., Chiuzan C., Shirai K. Survival of melanoma patients with brain metastases treated with ipilimumab and stereotactic radiosurgery//Cancer Medicine, 2015, Vol. 4, No. 1, P. 1-6.
195. Choong E.S., Lo S., Drummond M., Fogarty G.B., Menzies A.M., Guminski A., Shivalingam B., Clarke K., Long G.V., Hong A.M. Survival of patients with melanoma brain metastasis treated with stereotactic radiosurgery and active systemic drug therapies//European Journal of Cancer, 2017, Vol. 75, P. 169-178.
196. Cohen-Inbar O., Shih H.-H., Xu Z., Schlesinger D., Sheehan J.P. The effect of timing of stereotactic radiosurgery treatment of melanoma brain metastases treated with ipilimumab//Journal of Neurosurgery, 2017, P. 1007-1014.

197. Rahman R., Niemierko A., Cortes A., Oh K.S., Flaherty K.T., Lawrence D.P., Sullivan R.J., Shih H.A. The use of Anti-PD1 Therapy in Melanoma Patients with Known Brain Metastases: Survival, Durable Intracranial Progression Free Survival and Radionecrosis//International Journal of Radiation Oncology\*Biography\*Physics, 2018, Vol. 102, No. 3, P. e275.
198. Qian J.M., Yu J.B., Kluger H.M., Chiang V.L.S. Timing and type of immune checkpoint therapy affect the early radiographic response of melanoma brain metastases to stereotactic radiosurgery: Immunotherapy and SRS in Brain Metastases//Cancer, 2016, Vol. 122, No. 19, P. 3051-3058.
199. Nardin C., Mateus C., Texier M., Lanoy E., Hibat-Allah S., Ammari S., Robert C., Dhermain F. Tolerance and outcomes of stereotactic radiosurgery combined with anti-programmed cell death-1 (pembrolizumab) for melanoma brain metastases://Melanoma Research, 2018, Vol. 28, No. 2, P. 111-119.
200. Kayama T., Sato S., Sakurada K., Mizusawa J., Nishikawa R., Japan Clinical Oncology Group, et al. Effects of Surgery With Salvage Stereotactic Radiosurgery Versus Surgery With Whole-Brain Radiation Therapy in Patients With One to Four Brain Metastases (JCOG0504): A Phase III, Noninferiority, Randomized Controlled Trial//Journal of Clinical Oncology, 2018, Vol. 36, No. 33, P. 3282-3289.
201. Brown P.D., Ballman K.V., Cerhan J.H., Anderson S.K., Carrero X.W., Whitton A.C., Greenspoon J., Parney I.F., Laack N.N.I., Ashman J.B., Bahary J.-P., Hadjipanayis C.G., Urbanic J.J., Barker F.G., Farace E., Khuntia D., Giannini C., Buckner J.C., Galanis E., Roberge D. Postoperative stereotactic radiosurgery compared with whole brain radiotherapy for resected metastatic brain disease (NCCTG N107C/CEC-3): a multicentre, randomised, controlled, phase 3 trial//The Lancet Oncology, 2017, Vol. 18, No. 8, P. 1049-1060.

202. Трофимова Т.Н. Нейрорадиология: оценка эффективности хирургии и комбинированной терапии глиом//Практическая онкология, 2106, Том 17, № 1, с. 32-40.
203. Юдин Д.И., Лактионов К.П., Саранцева К.А., Черненко П.А., Арзуманян А.Л. Системы критериев оценки ответа солидных опухолей при лечении иммуноонкологическими препаратами//Злокачественные опухоли, 2017, Том 1, № 22, с. 42-46.
204. Голанов А.В., Банов С.М., Ильяров С.Р., Ветлова Е.Р., Костюнченко В.В. Современные подходы к лучевому лечению метастатического поражения головного мозга//Злокачественные опухоли, 2014, Том 3, № 10, с. 137-140.

## ПРИЛОЖЕНИЕ А

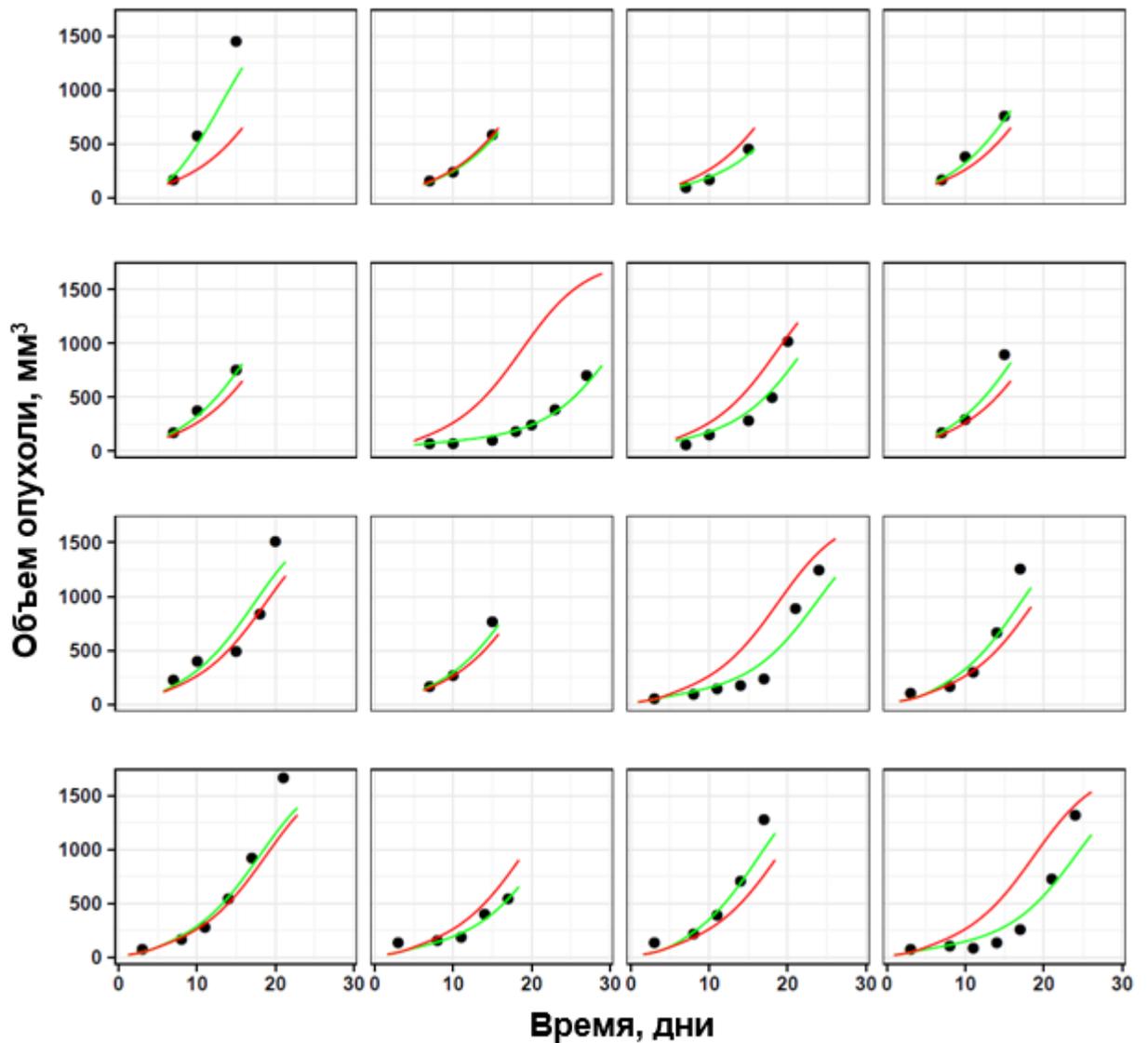
Воспроизведение индивидуальной динамики роста опухоли в  
финальной модели

Рисунок 1 – Сравнение экспериментальных данных (точки) с популяционными (красные линии) и индивидуальными (зеленые линии) модельными расчетами для животных контрольной группы животных (эксперимент 1)

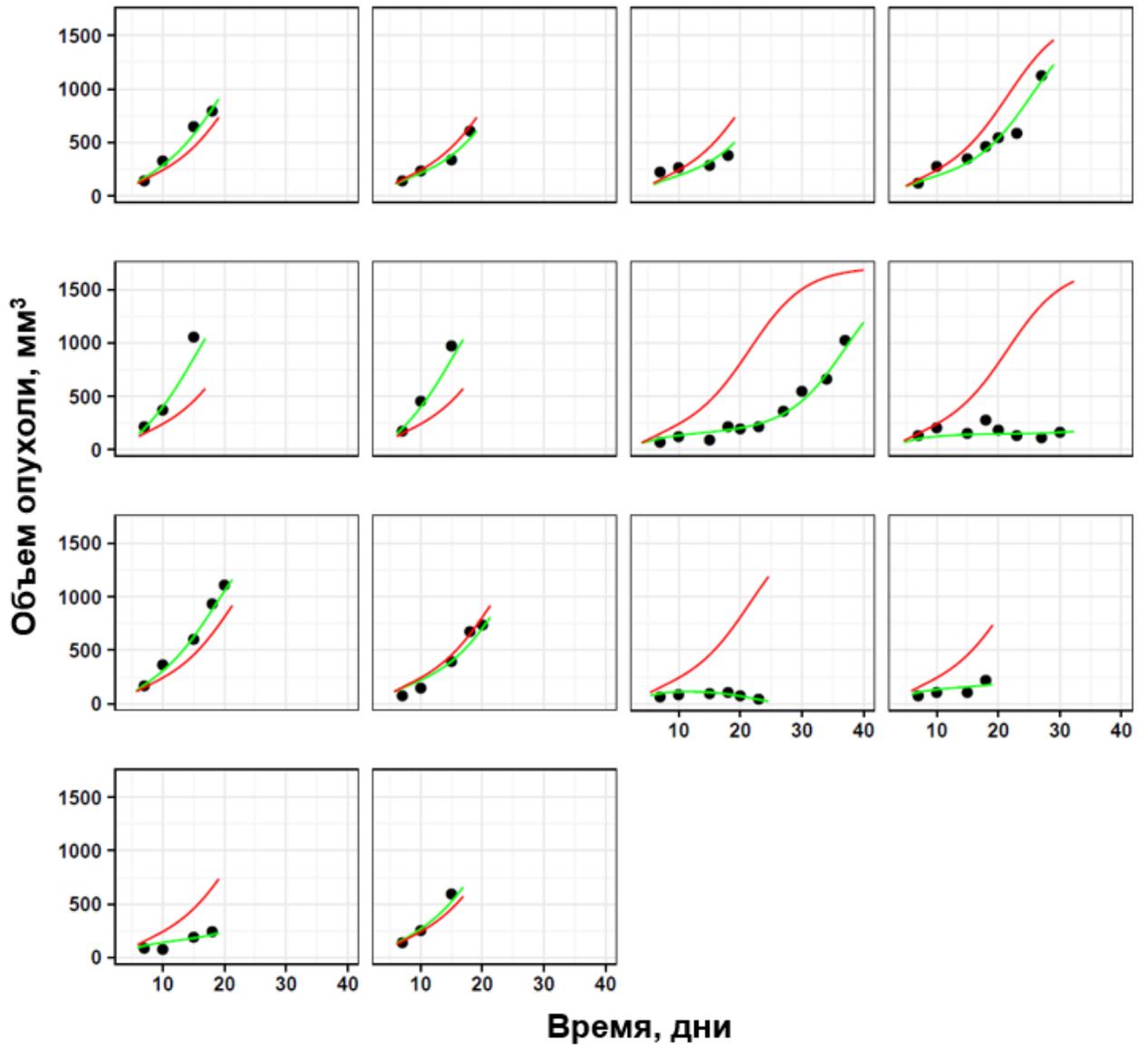


Рисунок 2 – Сравнение экспериментальных данных (точки) с популяционными (красные линии) и индивидуальными (зеленые линии) модельными расчетами для группы животных, получающих PD-L1-специфичное антитело (эксперимент 1)

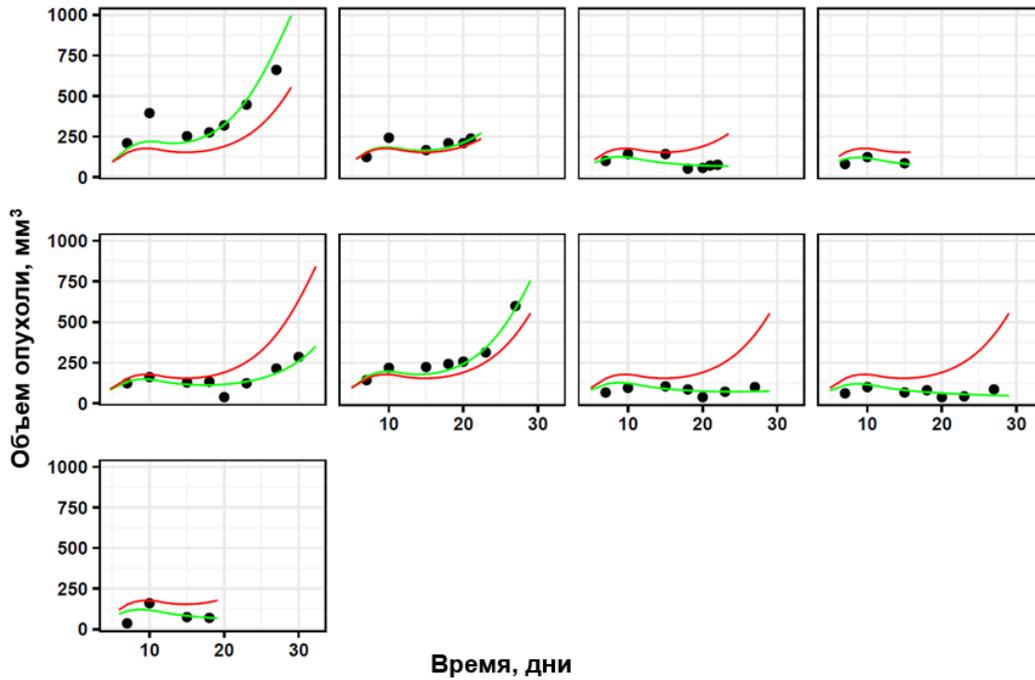


Рисунок 3 – Сравнение экспериментальных данных (точки) с популяционными (красные линии) и индивидуальными (зеленые линии) модельными расчетами для группы животных, получающих радиотерапию в режиме 5 x 2 Гр (эксперимент 1)

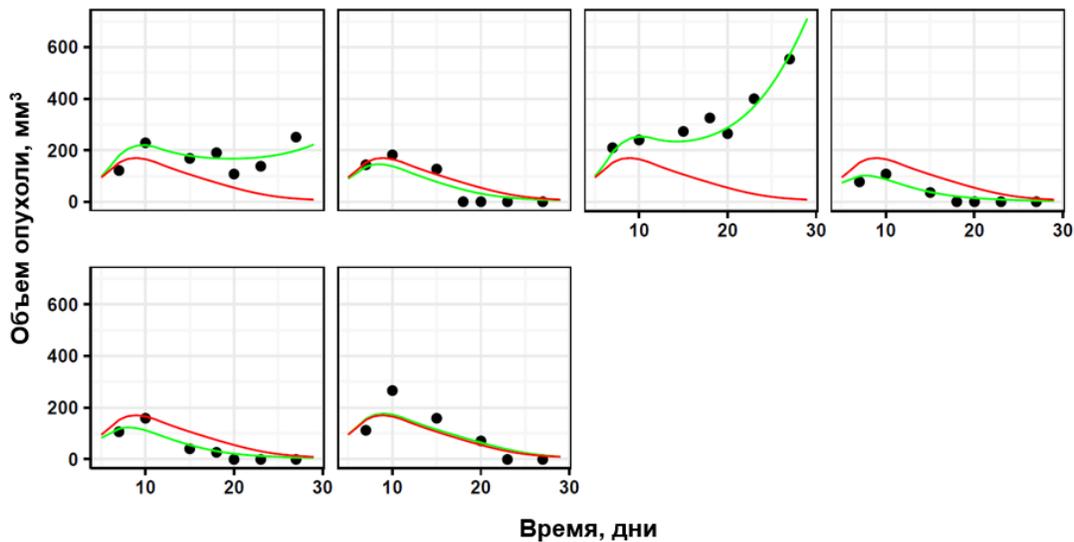


Рисунок 4 – Сравнение экспериментальных данных (точки) с популяционными (красные линии) и индивидуальными (зеленые линии) модельными расчетами для группы животных, получающих комбинированную радиотерапию 5 x 2 Гр, режим 1 (эксперимент 1)

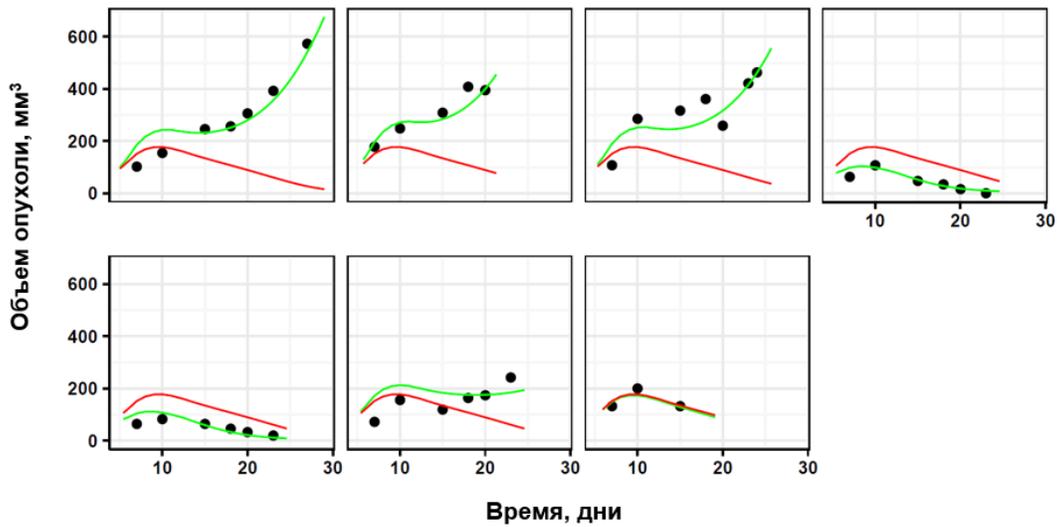


Рисунок 5 – Сравнение экспериментальных данных (точки) с популяционными (красные линии) и индивидуальными (зеленые линии) модельными расчетами для группы животных, получающих комбинированную радиотерапию 5 x 2 Гр, режим 2 (эксперимент 1)

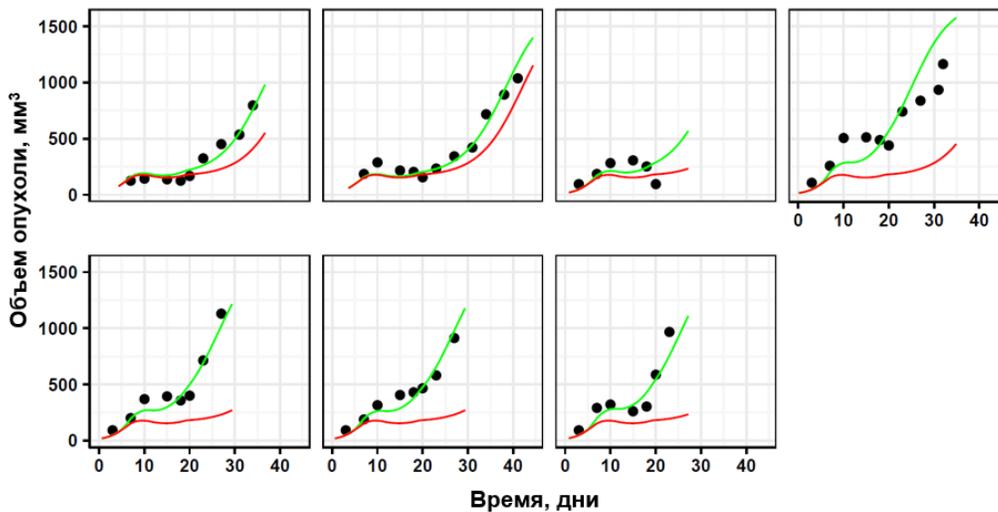


Рисунок 6 – Сравнение экспериментальных данных (точки) с популяционными (красные линии) и индивидуальными (зеленые линии) модельными расчетами для группы животных, получающих комбинированную радиотерапию 5 x 2 Гр, режим 3 (эксперимент 1)

## ПРИЛОЖЕНИЕ Б

### Характеристика включенных в метаанализ исследований

Исследование	Число пациентов	Медиана числа метастаз	Период наблюдений	Возраст пациентов	Процент пациентов с KPS $\geq$ 90 ECOG PS=0	Тип РТ	Процент пациентов, прежде получавших системную терапию	Тип ИКТИ
[169]	26	2	9.4	54.5	62	СРХТ	ТТ-14, СТ-30	PD-(L)1
[198]	55	4	15.5	62.5	-	СРХТ	ТТ-20, СТ-24	PD-(L)1, CTLA-4
[183]	17	3	8.7	60	53	СРХТ	ТТ-0, СТ-88	PD-(L)1
[170]	260	2	9.2	-	61	СРХТ	-	PD-(L)1, CTLA-4
[181]	36	1.5	9.2	67	-	СРХТ	-	PD-(L)1
[186]	137	2	9.8	57	-	СРХТ	-	PD-(L)1, CTLA-4
[77]	58	2	12	59.5	-	СРХТ	ТТ 18.95, СТ--	PD-(L)1, CTLA-4
[79]	163	-	16	61	-	Смешанный	ТТ – 22, СТ-90	PD-(L)1
[199]	25	-	8.4	58	72	СРХТ	ТТ-44, СТ-28	PD-(L)1
[173]	142	-	50	50	-	Смешанный	-	PD-(L)1
[72]	99	2	15.5	62.5	-	СРХТ	ТТ-15, СТ-14	CTLA-4
[179]	54	1 (46%), 2-3(40%), $\geq$ 3(13%)	-	59.2	37	СРХТ	ТТ--, СТ-20.39	CTLA-4
[78]	67	1(47%), 2(18%), $\geq$ 3(49%)	-	57.2	44	Смешанный	ТТ-20, СТ--	CTLA-4
[194]	10	3	-	65.5	-	СРХТ	-	CTLA-4
[193]	68	-	9.8	52.5	-	СРХТ	-	PD-(L)1, CTLA-4
[191]	46	2	22	57	-	СРХТ	-	CTLA-4

[187]	77	2	12.7	61	58	СРХТ	ТТ-38, СТ-62.3	CTLA-4
[196]	46	5	7.9	63	80.4	СРХТ	-	CTLA-4
Исследование	Число пациентов	Медиана числа метастаз	Период наблюдений	Возраст пациентов	Процент пациентов с KPS $\geq$ 90 ECOG PS=0	Тип РТ	Процент пациентов, прежде получавших системную терапию	Тип ИКТИ
[73]	58	3	6	62	-	СРХТ	-	CTLA-4
[177]	25	-	22.7	68.5	-	СРХТ	ТТ-12, СТ-0	CTLA-4
[195]	65	-	8.6	64.3	-	СРХТ	-	PD-(L)1, CTLA-4
[185]	16	2	7.6	60	50	Смешанный	-	CTLA-4
[184]	51	-	7	63.6	-	СРХТ	ТТ-11.8, СТ-51	PD-(L)1, CTLA-4
[171]	72	4	8.9	61	61	СРХТ	-	PD-(L)1, CTLA-4
[190]	91	-	7.4	62	-	СРХТ	ТТ-45, СТ-33	CTLA-4
[76]	480	-	23.6	61.8	-	СРХТ	-	PD-(L)1, CTLA-4
[192]	100	1	-	61	45	СРХТ	-	PD-(L)1
[71]	38	1-3 (63%); $\geq$ 4 (37%)	31.6	-	82	СРХТ	-	PD-(L)1, CTLA-4
[189]	1104	-	6.42	62	-	Смешанный	-	All
[167]	24	-	9	-	-	СРХТ	-	PD-(L)1
[182]	26	-	-	-	-	СРХТ	-	PD-(L)1, CTLA-4
[188]	37	2	15	-	-	СРХТ	-	PD-(L)1, CTLA-4
[174]	51	-	-	-	-	СРХТ	-	PD-(L)1
[180]	57	-	-	-	-	СРХТ	-	CTLA-4
[168]	34	-	7.4	-	-	Смешанный	-	CTLA-4
[178]	104	-	24.3	56	-	Смешанный	-	PD-(L)1

## ПРИЛОЖЕНИЕ В

## Воронкообразные диаграммы рассеяния метарегрессионных моделей

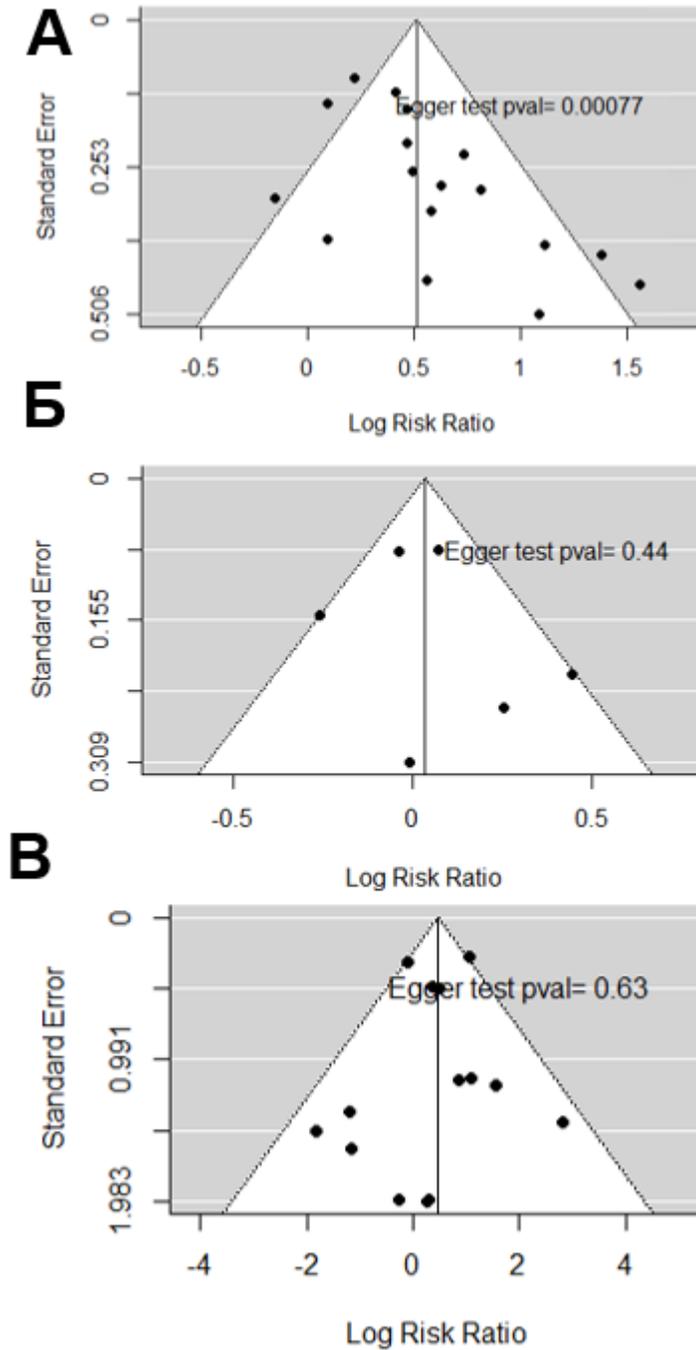


Рисунок 7 – Воронкообразные диаграммы рассеяния для метааналитических моделей отношения рисков для показателей (А) одногодичной ОВ, (Б) одногодичного ЛОК, (В) частоты радионекроза

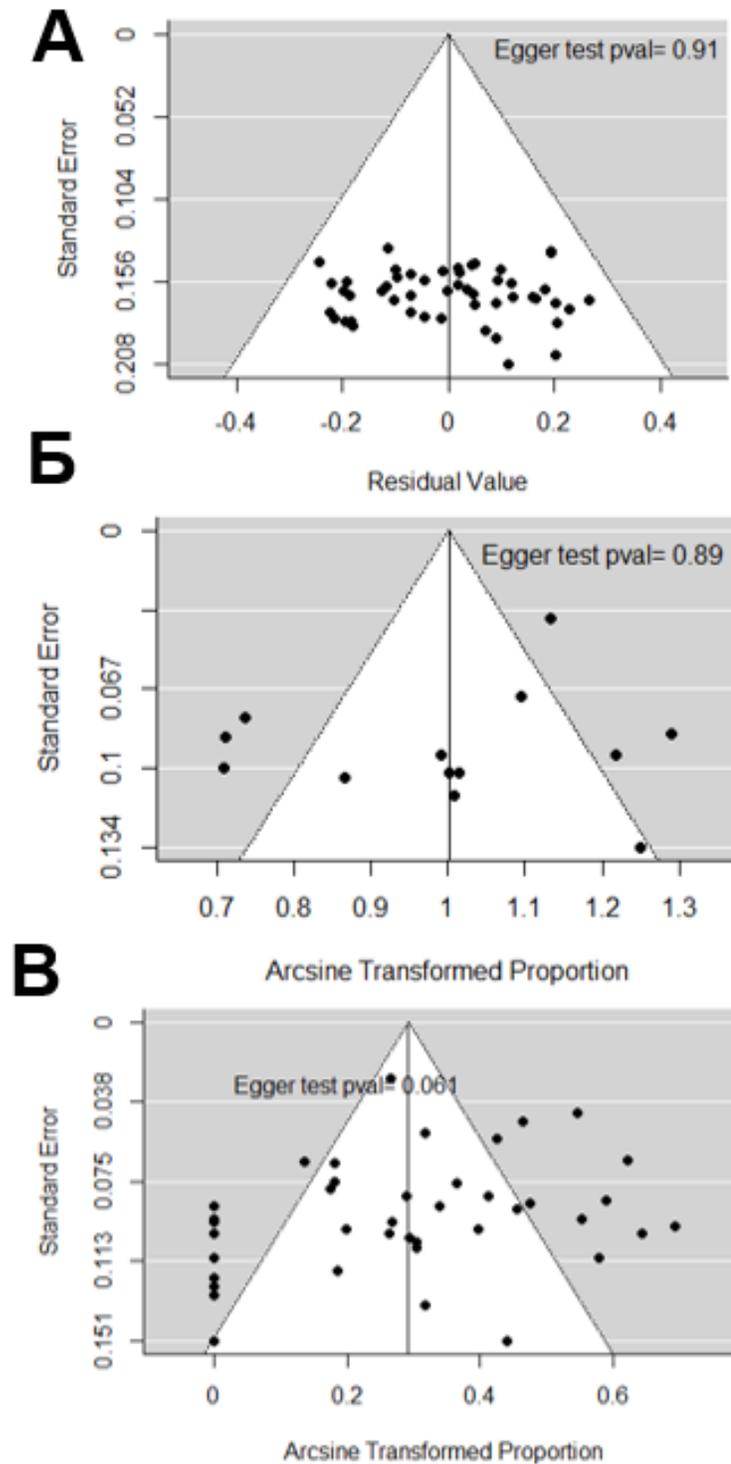


Рисунок 8 – Воронкообразные диаграммы рассеяния для метааналитических моделей для показателей (А) одногодичной ОВ, (Б) одногодичного ЛОК, (В) частоты радионекроза