

Воронова Вероника Михайловна

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

14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание учёной степени  
кандидата фармацевтических наук

Москва – 2021

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

**Научный руководитель:**

доктор биологических наук, доцент

**Лебедева Светлана Анатольевна**

**Научный консультант:**

доктор медицинских наук, профессор

**Секачева Марина Игоревна**

**Официальные оппоненты:**

**Духанин Александр Сергеевич** – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет» им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра молекулярной фармакологии и радиобиологии имени академика П.В. Сергеева, профессор кафедры, научно-исследовательская лаборатория молекулярной фармакологии, ведущий научный сотрудник

**Балабаньян Вадим Юрьевич** – доктор фармацевтических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», лаборатория трансляционной медицины факультета фундаментальной медицины, ведущий научный сотрудник

**Ведущая организация:** федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Министерство науки и высшего образования Российской Федерации

Защита диссертации состоится «25» мая 2021 года в 14.00 часов на заседании Диссертационного совета ДСУ 208.001.11 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, дом 8, стр. 2.

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бульвар, дом 37/1) и на сайте организации [www.sechenov.ru](http://www.sechenov.ru)

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 года

**Ученый секретарь**

диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор

**Дроздов Владимир Николаевич**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**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 (Koo T., Kim I.A., 2016). Для увеличения эффективности иммуностимулирующих препаратов активно используются стратегии комбинирования и персонализации терапии, предполагающие рациональный выбор 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 (Tang J. et al., 2014; Wang Y. et al., 2018). 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 (Gunderson A., Young K.H., 2018; Van Limbergen E.J. et al., 2017). Опубликованные ретроспективные клинические наблюдения свидетельствуют об эффективности иммунотерапии на фоне радиолечения у пациентов с различными онкологическими

заболеваниями (Bang A., Schoenfeld J., 2018). 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 CT26 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 CT26.

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 экспериментальных данных, полученных в доклинических исследованиях.

### **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 CT26. 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 опухолеинфильтрирующих 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 на сертифицированном и современном оборудовании с использованием высокотехнологичных методик. Полученные экспериментальные данные обработаны с применением 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 учебной и научной деятельности кафедры фармакологии Института фармации им. А.П. Нелюбина Сеченовского Университета и производственном процессе ООО ЭмЭндЭс Десижанс (Москва).

## **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология, а также области исследования согласно пунктам 3, 4, 8, 12 и 13.

## **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.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

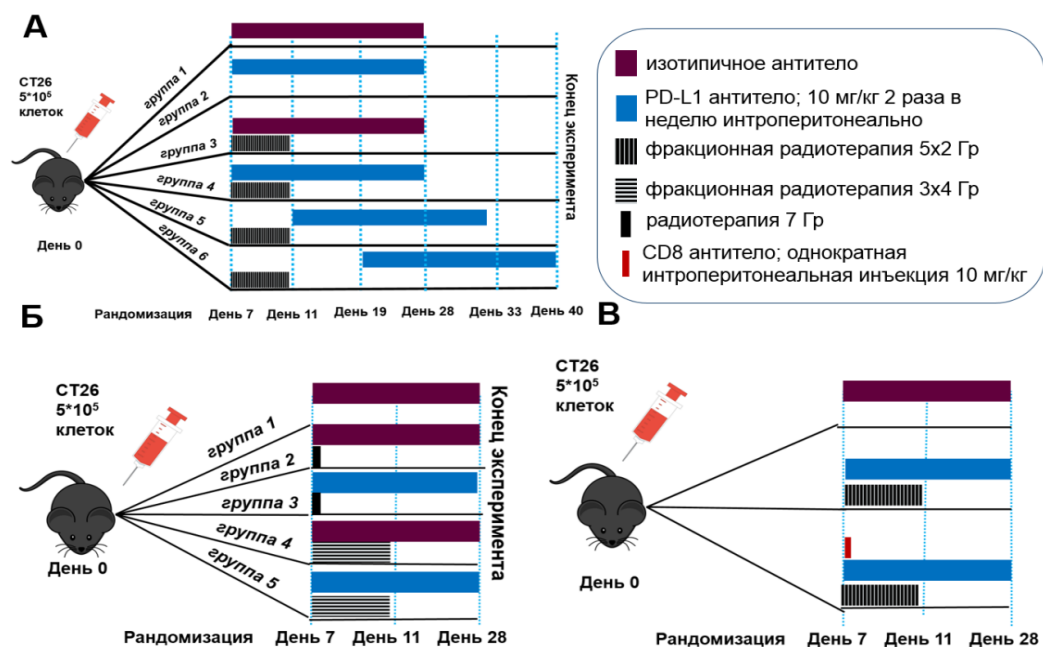
### **Материалы и методы исследования**

**Доклинические исследования противоопухолевой активности различных режимов радио- и иммунотерапии** проведены на 145 иммунокомпетентных особях инбредных мышей-самцов альбиносов (BALBc) массой 18–25 г, которым был пересажен инокулят, содержащий  $5 \cdot 10^5$  клеток СТ26-мышинной колоректальной аденокарциномы<sup>1</sup>.

Было проведено три группы экспериментов, предполагающих: изучение влияния временного интервала между радио- и иммунотерапией на противоопухолевый эффект лечения (А), сравнение эффективности комбинированной терапии при различных режимах фракционирования облучения (Б), оценку эффективности комбинированной терапии при иммунодефицитных состояниях (В) (рисунок 1).

---

<sup>1</sup> Исследования проведены в академическом исследовательском центре наук о здоровье Манчестера (Manchester Academic Health Sciences Centre).



**Рисунок 1** – Схема дизайна доклинических экспериментов

В исследовании использовались мышинные моноклональные антитела, специфичные к PD-L1 (клон 10F.9G2, Biolegend U.K.) и CD8 (клон YTS169, Southampton University, U.K.). Облучение проводилось на Pantak HF-320320. Измерение объема опухоли осуществлялось 2 раза в неделю.

Статистическая обработка и анализ экспериментальных данных проводился в программной среде R (версия 3.5.1). Оценка статистической значимости различий между группами осуществлялась с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни.

**Математическое моделирование.** В работе использовалась методология нелинейного моделирования смешанных эффектов (НМСЭ) (Nguyen T.H.T. et al., 2017). В данном подходе значение зависимой переменной, а именно, размера опухоли у  $j$ -того животного в момент времени  $i$  ( $TV_{ij}$ ) определяется нелинейными функциями  $f$  и  $g$ , параметров  $\phi_i$  и дополнительного вектора фиксированных параметров  $\sigma$ , а также случайной ошибкой эксперимента  $e_{ij}$  (ур. 1):

$$TV_{ij} = f(t_{ij}, \psi_i) + g(t_{ij}, \phi_i, \sigma) \cdot e_{ij} \quad (\text{ур. 1})$$

Ошибки экспериментов  $e_{ij}$  предполагаются различными для каждого измерения и считаются распределенными нормально случайными величинами со средним значением 0 и дисперсией  $\sigma^2$ :  $e_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$ .

Компиляция модели проводилась в специализированном программном обеспечении Monolix®; оценка параметров осуществлялась с помощью алгоритма стохастической аппроксимации SAEM (Comets E., Lavenu A., Lavielle M., 2017). Согласие между модельными

расчетами и экспериментальными данными оценивалось посредством визуального анализа стандартных диагностических графиков; оценка неопределенности модельных параметров осуществлялась с использованием информационной матрицы Фишера (Comets E., Lavenu A., Lavielle M., 2017).

**Методология метаанализа.** Метаанализ осуществлялся в соответствии с руководствами Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-analyses (PRISMA) (Moher D. et al., 2009) и Meta-analysis of Observational Studies in Epidemiology (MOOSE) (Stroup D.F. et al., 2000), а также отечественными методическими рекомендациями по проведению метаанализа (Омельяновский В.В. и соавт., 2017). Поиск проводился в базе данных Pubmed и материалах ключевых онкологических и радиологических конференций с использованием следующего поискового запроса: «*(radiotherapy OR radiosurgery) AND (immunotherapy OR nivolumab OR pembrolizumab OR atezolizumab OR drivalumab OR ipilimumab OR tremelimumab OR lambrolizumab OR ticilimumab OR PD-1 OR PD-L1 OR CTLA-4) AND (brain AND metastases)*».

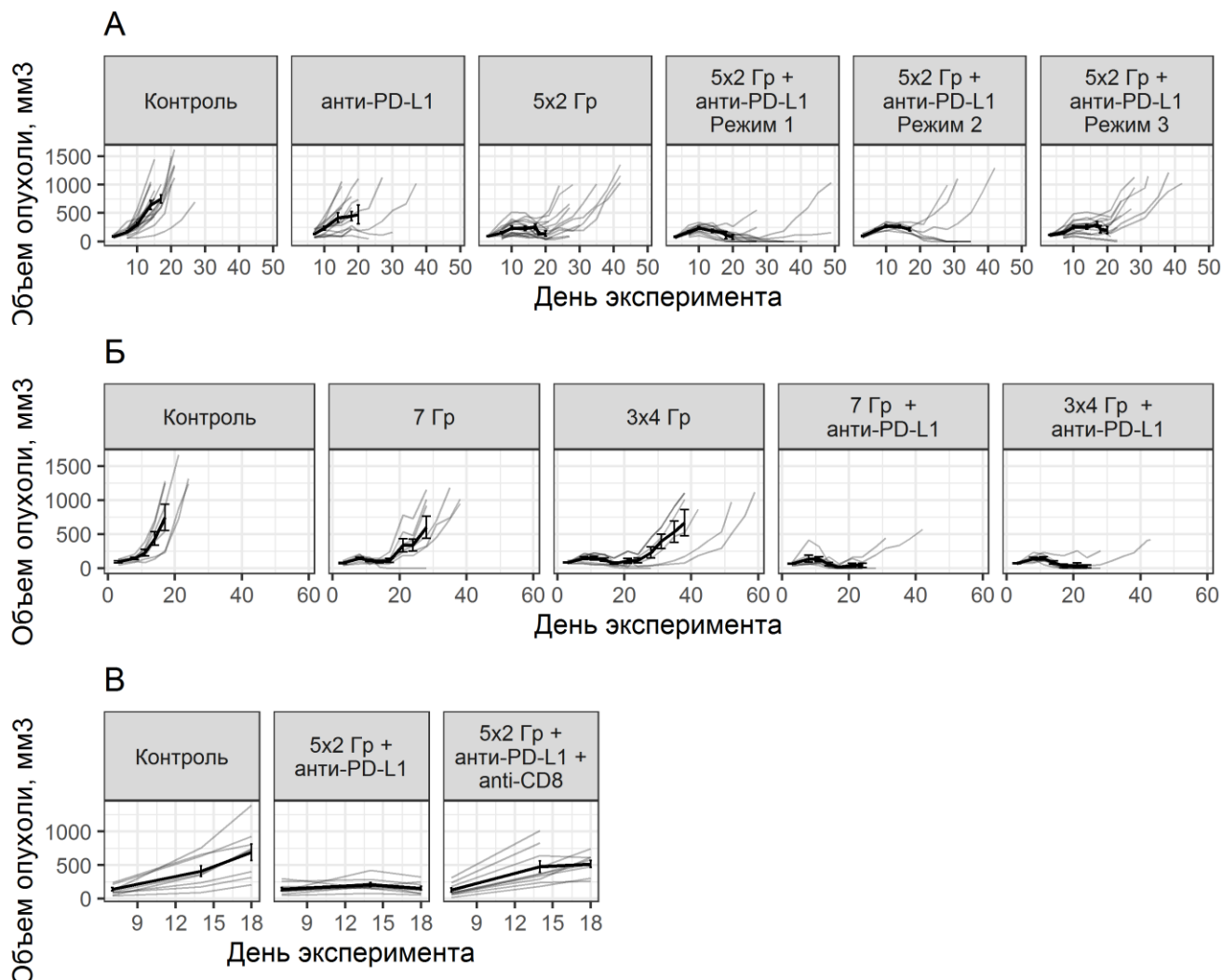
Для дальнейшего рассмотрения отбирались англоязычные источники, содержащие информацию об одногодичной общей выживаемости (ООВ), одногодичном локальном опухолевом контроле (ЛОК) и частоте радионекроза, собранную из клинических исследований, проведенных более, чем на 10 пациентах с олигометастатическими поражениями головного мозга, получающих ИКТИ на фоне лучевой терапии. Из текстов статей извлекалась информация о режиме лечения и статусе пациентов.

Для расчета обобщенной величины эффекта были использованы метарегрессионные модели смешанных эффектов (Viechtbauer W., 2010). Оценка предвзятости публикаций осуществлялась посредством теста Эггера и анализа воронкообразных диаграмм рассеяния. Для подтверждения правомерности использования метарегрессионного подхода и оценки гетерогенности данных рассчитывался индекс гетерогенности  $I^2$  и Q-критерий Кохрена (Viechtbauer W., 2010).

## Результаты исследования

**Изучение противоопухолевой активности PD-1/PD-L1-специфичных антител на фоне радиолечения в доклинических исследованиях.** Результаты экспериментов представлены на рисунке 2. По наблюдениям первой группы экспериментов (рисунок 2А) отмечена более выраженная противоопухолевая активность комбинированной терапии по сравнению с радио- и иммунотерапией, показано снижение эффективности комбинированного лечения при увеличении временного интервала между терапевтическими воздействиями. Режимы лучевой терапии,

используемые в рамках комбинированного лечения в первой и второй группе экспериментов, продемонстрировали сопоставимую эффективность (рисунок 2А, Б). По результатам третьей группы экспериментов отмечена полная потеря противоопухолевой активности радиоиммунотерапии на фоне деплеции CD8+ Т-лимфоцитов (рисунок 2С).



**Рисунок 2** – Динамика роста опухоли в экспериментах А, Б и В. На графиках отражены индивидуальные тренды; средние значения, планки погрешностей отражают стандартную ошибку.

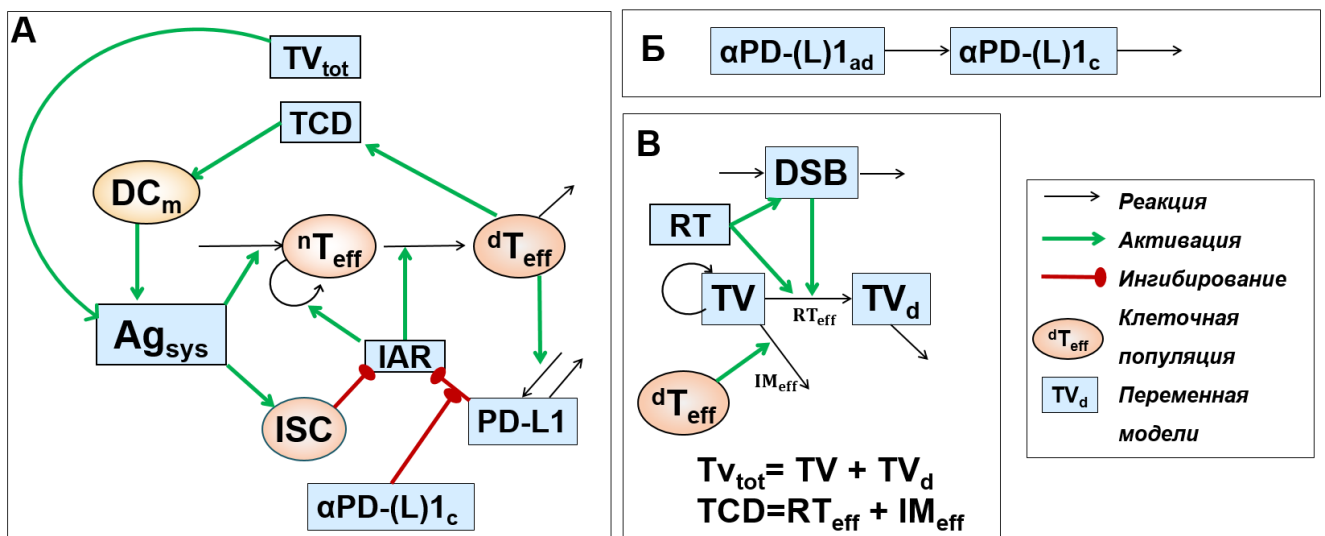
**Математическая модель противоопухолевого иммунного ответа.** Разработанная математическая модель состоит из трех блоков:

1. Иммуноонкологический блок содержит описание ключевых этапов противоопухолевого иммунного ответа: (1) выброс антигена ( $Ag_{sys}$ ) из погибших опухолевых клеток; (2) презентацию антигена на поверхности дендритных клеток (DCm); (3) пролиферацию и дифференцировку опухолеспецифичных клонов Т-лимфоцитов (nTeff) в эффекторные Т-киллеры (dTeff); (4)

подавление противоопухолевого иммунного ответа посредством активации PD-1/L1 механизма (PD-L1) и усиления миграции иммуносупрессивных клеточных популяций (ISC) в сайт опухоли.

2. Фармакокинетическая модель воспроизводит профиль PD-L1-специфичного моноклонального антитела в месте введения ( $\alpha\text{PD-L1}_{\text{ad}}$ ) и плазме крови ( $\alpha\text{PD-L1}_{\text{c}}$ ).

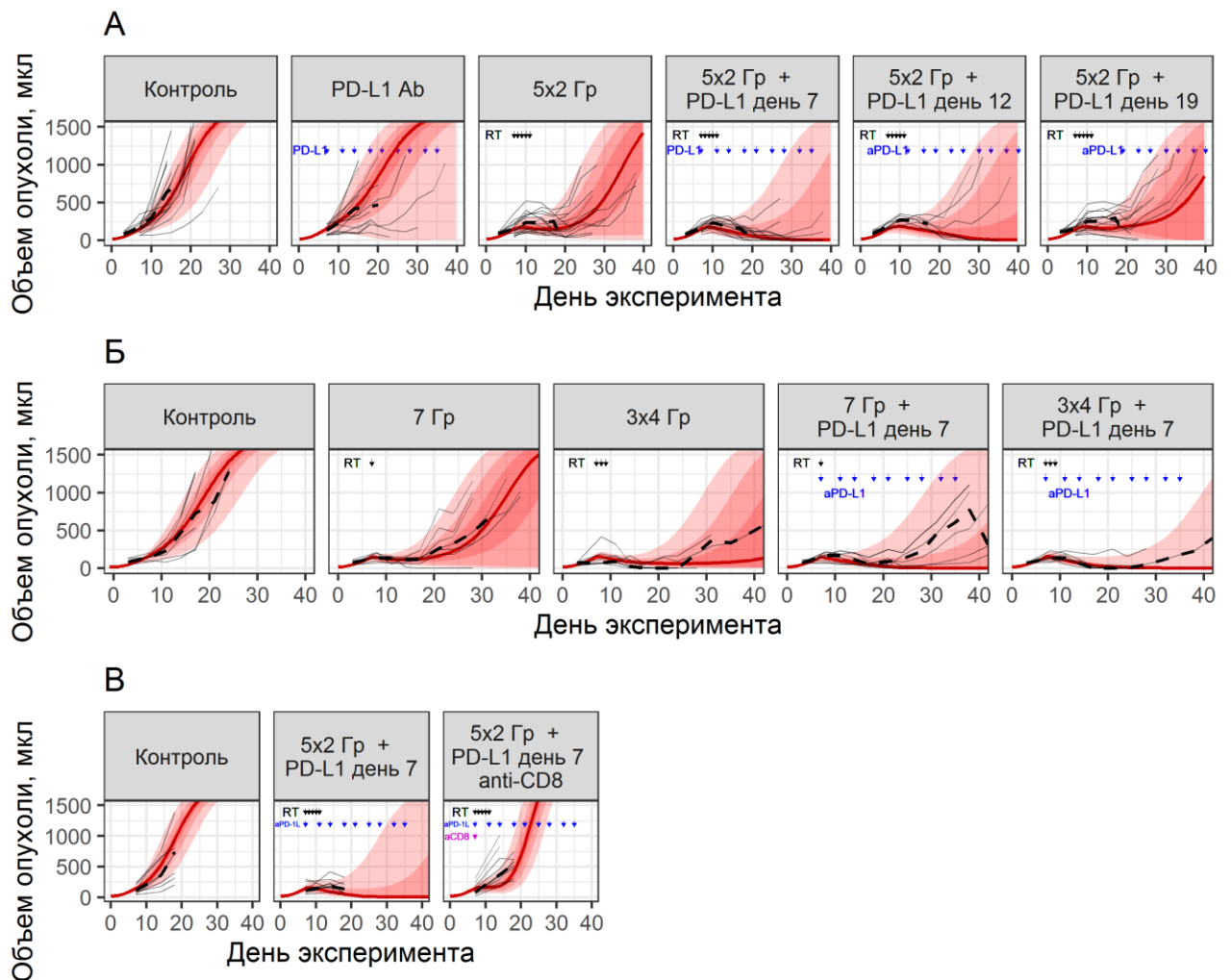
3. Линейно-квадратичная модель описывает биологические эффекты ионизирующего излучения ( $\text{RT}_{\text{eff}}$ ): возникновение двуцепочечных радиоиндуцированных разрывов ДНК (DSB), сопровождающееся гибелью опухолевых клеток (TV) с их последующей элиминацией. Компонент  $\text{IM}_{\text{eff}}$  характеризует цитотоксическое действие  $\text{dT}_{\text{eff}}$  на клетки опухоли (рисунок 3).



**Рисунок 3** – Схема математической модели. А. Иммуноонкологический блок. Б. Фармакокинетическая модель PD-L1-специфичного моноклонального антитела. В. Модель биологических эффектов лучевой терапии.  $\alpha\text{PD-L1}_{\text{c}}$ ,  $\alpha\text{PD-L1}_{\text{ad}}$  – уровни PD-L1 антитела в месте введения и плазме крови;  $\text{Ag}_{\text{sys}}$  – уровень антигена;  $\text{DC}_{\text{m}}$  – уровень антигенпрезентирующих клеток;  $\text{dT}_{\text{eff}}$  и  $\text{nT}_{\text{eff}}$  – уровни цитотоксических лимфоцитов и их предшественников;  $\text{IAR}$  – функция активации лимфоцитов;  $\text{PD-L1}$  и  $\text{ISC}$  – активность PD-1/PD-L1 и иммуносупрессивных клеток;  $\text{TCD}$  – скорость гибели опухолевых клеток под действием радио- ( $\text{RT}_{\text{eff}}$ ) и иммунотерапии ( $\text{IM}_{\text{eff}}$ );  $\text{DSB}$  – двуцепочечные разрывы ДНК;  $\text{TV}_{\text{tot}}$ ,  $\text{TV}$ ,  $\text{TV}_{\text{d}}$  – объемы общего, пролиферирующего и проапоптотического пула опухолевых клеток.

Модель включает 25 параметров, значения 17 из которых были получены из литературных данных (периоды жизни различных клеточных популяций, фармакокинетические параметры для рассматриваемого антитела и др.). Верификация 8 параметров была проведена с использованием

вышеизложенных экспериментальных данных. Примеры используемых диагностических графиков представлены на рисунке 4.

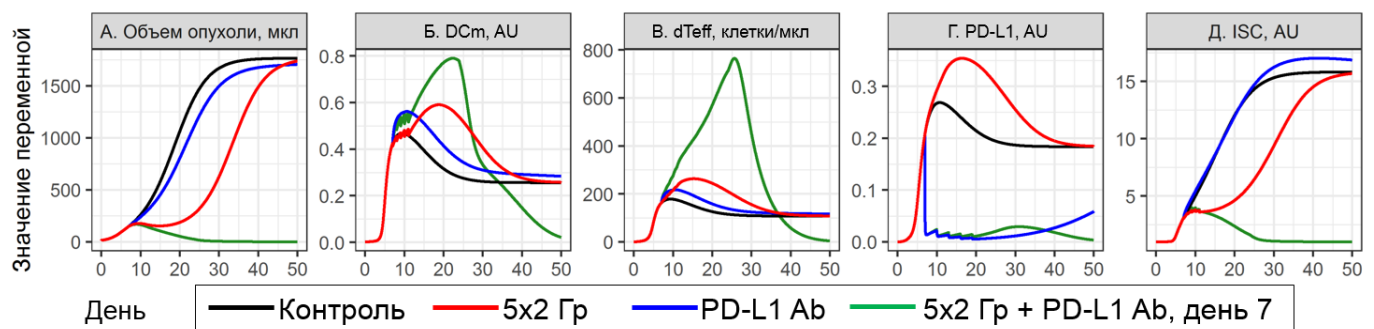


**Рисунок 4** – График воспроизведения данных, полученных в экспериментах А, Б и В в модели. Данные экспериментов отмечены черным цветом: сплошные линии отражают индивидуальную динамику роста опухоли, пунктирная кривая; медиана измерений обозначена пунктирной кривой; модельные расчеты показаны красным цветом: линия отражает медиану расчетов, закрашенные области – 30, 60 и 90-% доверительные интервалы (ДИ) расчетов.

Модель предоставляет корректное воспроизведение данных эксперимента на популяционном уровне: медианы модельных расчетов соответствуют экспериментальным наблюдениям, индивидуальные показатели роста опухоли лежат в пределах предсказательных интервалов. Анализ идентифицируемости показал однозначность в оценке модельных параметров на основании данных эксперимента: стандартные остаточные ошибки параметров не превышали 25%, при старте с разных

начальных условий, алгоритм SAEM сходил к единым значениям. На основании вышеизложенных результатов был сделан вывод о правомерности использования разработанной модели для получения дальнейших расчетов.

**Использование математической модели для изучения биологических эффектов и оптимизации комбинированной радио- и иммунотерапии.** На первом этапе были изучены механизмы синергии между радиолечением и анти-PD-1/PD-L1 терапией. В рамках данной задачи были получены модельные расчеты типичной функциональной динамики дендритных клеток, цитотоксических форм лимфоцитов, а также активности иммуносупрессивных клеточных популяций и PD-L1-опосредованных механизмов (рисунок 5) в эксперименте А.

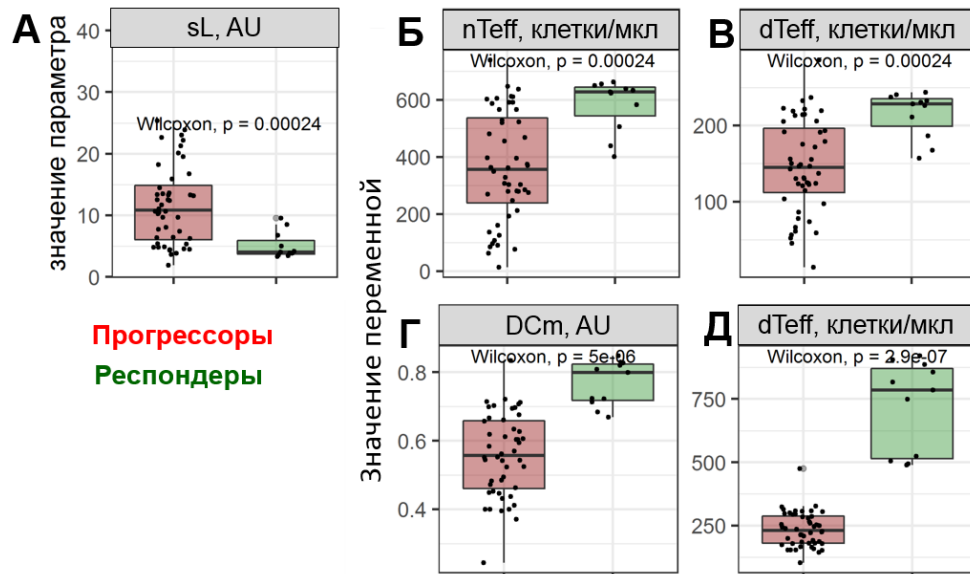


**Рисунок 5** – Расчет динамических изменений А. объема опухоли; Б. популяций антигенпрезентирующих клеток – DCm; В. популяций цитотоксических лимфоцитов – dTeff; Г. активности PD-1/PD-L1 – PD-L1 и Д. активности иммуносупрессивных клеток – ISC под действием терапии.

Согласно модельным расчетам, эффективность моноиммунотерапии ограничена накоплением ISC, в то время как при комбинированной терапии наблюдается снижение уровня как PD-1/PD-L1, так и ISC-опосредованной иммуносупрессии (рисунок 5Г, Д) а также выраженное увеличение числа dTeff (рис. 5В), сопровождающееся полной регрессией опухолевого очага (рисунок 5А), вслед за которым наблюдается резолюция иммунного ответа, выражающаяся в снижении уровня всех клеточных популяций.

На втором этапе проводилось изучение механизмов межиндивидуальной вариабельности в ответе на терапию. В рамках данной задачи были проанализированы расчетные уровни иммуноактивных клеточных популяций (DCm, Teff) на момент начала терапии и в процессе лечения у животных с регрессией опухоли на фоне терапии («респондеров») и животных с прогрессией заболевания («нереспондеров»). Модельные расчеты указывают на наличие статистически значимых различий в рассматриваемых величинах между группами животных: респондеры

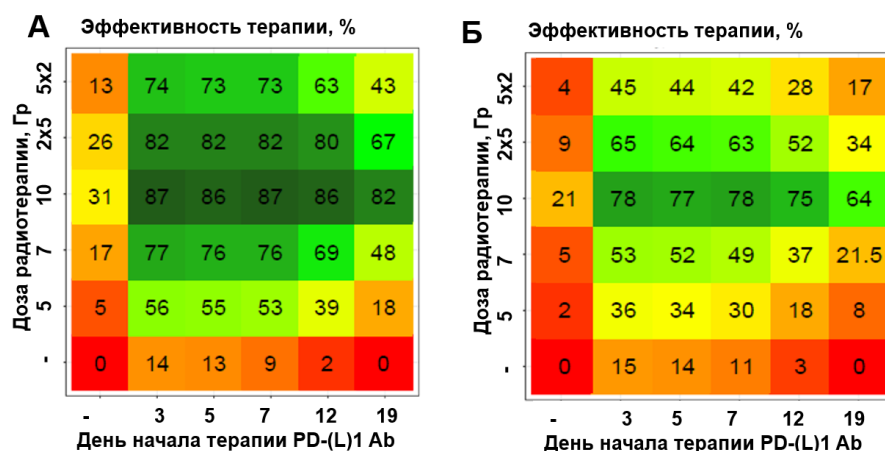
характеризуются более активной миграцией nTeff в сайт опухоли и, соответственно, более высоким уровнем dTeff как до, так и в процессе лечения, а также более высокой активностью антигенпрезентирующих клеток на фоне иммунотерапии (рисунок 6).



**Рисунок 6** – Сравнение модельных расчетов А. Параметра sL; базового уровня цитотоксических лимфоцитов и их предшественников – dTeff и nTeff (Б, В); максимальных уровней антигенпрезентирующих клеток и цитотоксических лимфоцитов – DCm и dTeff (Г, Д) на фоне лечения у респондеров и прогрессоров. Данные представлены в виде диаграмм размаха, индивидуальные значения обозначены точками.

Данные результаты подтверждают рациональность использования параметров иммуногенности опухоли (мутационной нагрузки, микросателлитной нестабильности и др.), а также уровня опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов в качестве предиктивных биомаркеров для оценки вероятности успеха лечения.

На третьем этапе предложенная модель была использована для расчета эффективности альтернативных режимов радиоиммунотерапии, включающих различные схемы фракционирования облучения и время начала лечения. На основании расчетов установлен дозозависимый противоопухолевый эффект облучения как в виде монотерапии, так и в комбинации с PD-1/PD-L1-специфичными антителами. Отмечено, что гипофракционные режимы являются менее эффективными по сравнению с однократными высокодозными режимами при одинаковой суммарной дозе облучения, показана более высокая эффективность терапии при раннем начале лечения PD-L1-специфичными антителами (рисунок 7).



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

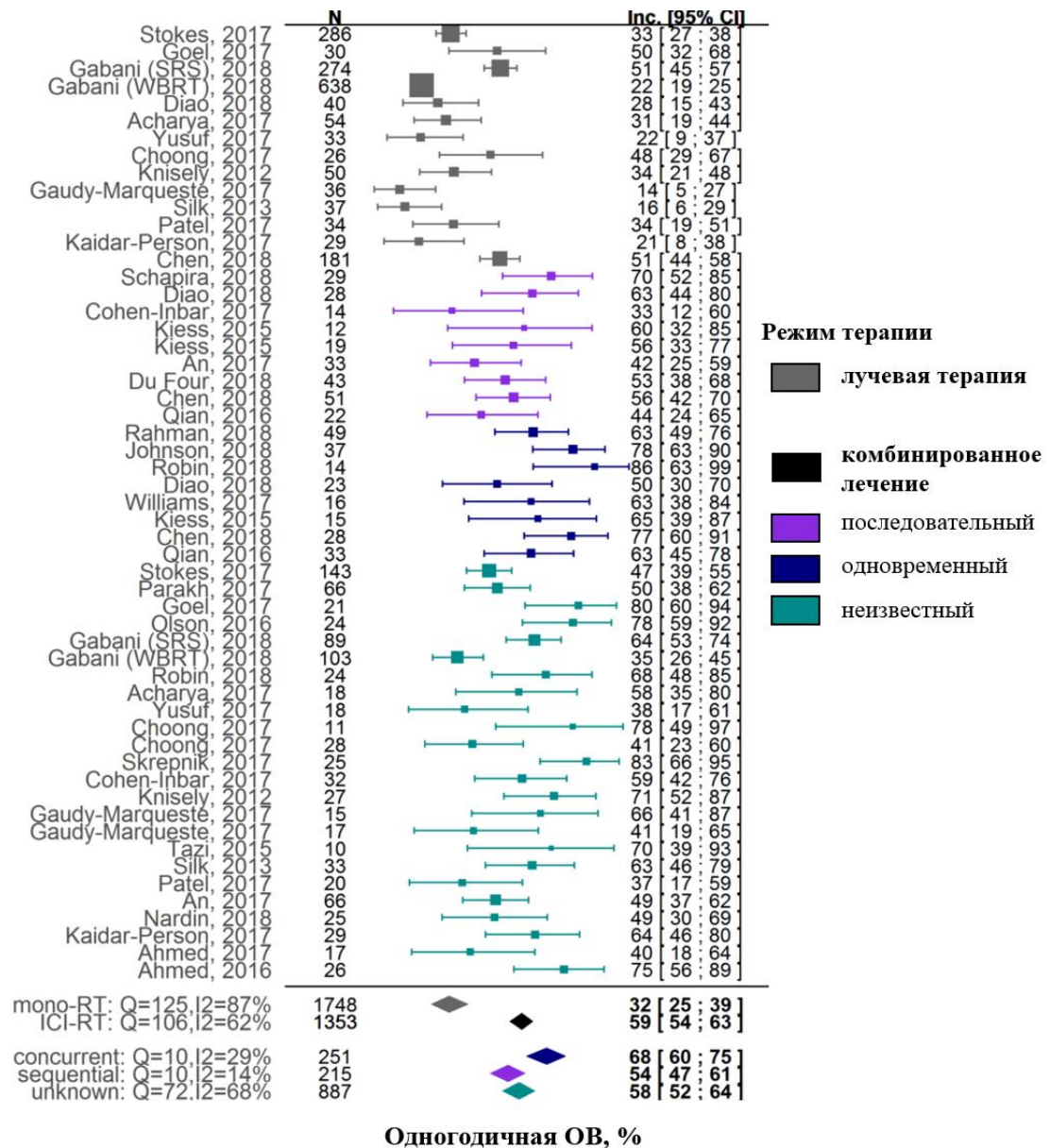
**Метаанализ клинических исследований радио- и иммунотерапии.** По итогам систематического поиска было отобрано 40 публикаций, соответствующих заданным критериям. По результатам метаанализа было выявлено значимое увеличение обобщенной величины эффекта для показателя ООВ в группе пациентов, получающих ИКТИ на фоне лучевой терапии; при этом показатели частоты радионекроза и одногодичного ЛОК не различались между рассматриваемыми группами (Таблица 1). Таким образом, можно сделать вывод о большей эффективности и сопоставимой безопасности комбинированной радио- и иммунотерапии по сравнению с лучевой терапией.

**Таблица 1** – Результаты метаанализа клинических исходов лучевой терапии и комбинированной радио- и иммунотерапии

| Показатель           | Значение, % (95% ДИ) |  |
|----------------------|----------------------|--|
|                      | Лучевая терапия      | Комбинированная радио- и иммунотерапия |
| ООВ                  | 32 (25-40)           | Все данные: 59 (54-63) ***             |
|                      |                      | Одновременный прием: 68 (60-75) ***    |
|                      |                      | Последовательный прием: 54 (47-61) **  |
| Одногодичный ЛОК     | 68 (46-86)           | 80 (73-87)                             |
| Частота радионекроза | 6 (2-13)             | 9,0 (5,0-14)                           |

\*\*\* – p-value < 0,0001, \*\* – p-value < 0,001 по сравнению с лучевой терапией

Стоит отметить, что наиболее высокий показатель ООВ наблюдался при одновременном назначении радио- и иммунотерапии (рисунок 8). Данный результат согласуется с представленными ранее наблюдениями доклинических исследований и математическими расчетами и указывает на важность учета временного фактора для достижения максимальной противоопухолевой активности рассматриваемого комбинированного подхода.



**Рисунок 8** – «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.

## Выводы

1. У мышей с колоректальной аденокарциномой СТ26 показана наибольшая эффективность режимов радиотерапии 5x2 Гр, 7 Гр и 3x4 Гр с одновременным назначением PD-1/PD-L1 моноклональных антител.

2. Разработана математическая модель противоопухолевого иммунного ответа, позволяющая охарактеризовать дозозависимое ингибирование роста опухоли и оценить межиндивидуальную вариабельность эффективности проводимой терапии 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. Максимальная противоопухолевая активность была показана для режима, предполагающего однократное воздействие 10 Гр излучения на опухоль в сочетании с одновременным приемом 10 мг/кг анти-PD-L1-специфичного моноклонального антитела и последующими инъекциями препарата один раз в 3 дня на протяжении 2 недель.

4. Показано, что иммуногенная гибель опухолевых клеток под действием ионизирующего излучения сопровождается временным увеличением инфильтрации опухоли цитотоксическими лимфоцитами. Применение PD-1/PD-L1 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 монорadioлечением.

5. Установлено, что в качестве предиктивного биомаркера может быть использован показатель инфильтрации опухоли цитотоксическими лимфоцитами.

6. Метаанализ результатов клинических исследований показал более высокую эффективность комбинированной радио- и иммунотерапии по сравнению с монорadioлечением, при этом наиболее выраженный эффект наблюдался при одновременном назначении радио- и иммунотерапии. Полученные результаты согласуются с проведенными модельными расчетами.

## 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 исследований 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 работ, опубликованных по теме диссертации

1. O. Stepanov, **V. Voronova**, Y. Kosinsky, K. Peskov, E. Masson, G. Helmlinger. A quantitative systems pharmacology model to explore combination efficacy of immuno-oncology compounds: Effects of CXCR2 and PD-1 inhibitions// PAGE: Abstracts of the Annual Meeting of the Population Approach Group in Europe, 2016, abstr. 5815; URL: <https://www.page-meeting.org/default.asp?abstract=5815>

2. Y. Kosinsky, K. Peskov, B. Shulgin, O. Stepanov, **V. Voronova**, E. Masson, G. Helmlinger. Investigation of anti-CTLA-4 immuno-oncology therapy through a quantitative systems pharmacology model// PAGE: Abstracts of the Annual Meeting of the Population Approach Group in Europe, 2016, abstr. 5827; URL: <https://www.page-meeting.org/default.asp?abstract=5827>

3. Y. Kosinsky, S. Dovedi, K. Peskov, **V. Voronova**, L. Chu, E. Masson, H. Tomkinson, N. Al-Huniti, D. Stanski, G. Helmlinger, Radiation and anti-PD-L1 treatment combinations: Immune cell responses and dose scheduling optimization using a joint experimental and systems modeling approach// PAGE: Abstracts of the Annual Meeting of the Population Approach Group in Europe, 2017, abstr. 7339; URL: <https://www.page-meeting.org/default.asp?abstract=7339>

4. Y. Kosinsky, K. Peskov, **V. Voronova**, L. Chu, N. Al-Huniti, E. Masson, G. Helmlinger. Quantitative Systems Pharmacology (QSP) modeling as a systematic approach for drug combination evaluation in Immuno-Oncology (IO)// Abstracts for American conference on pharmacometrics 2017

(ACoP8). *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* – 2017. – Vol. 44, Suppl 1. – P122, abstr. W-059. doi: 10.1007/s10928-017-9536-y

5. V. Sokolov, L. Chu, Y. Kosinsky, N. Al-Huniti, R. Fox, H. Schmidt, D. Onishchenko, **V. Voronova**, K. Zhudenkov, G. Helmlinger, K. Peskov. Drug-Disease modeling: a practical workflow from model development to simulations// Abstracts for American conference on pharmacometrics 2017 (ACoP8) // *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* – 2017. – Vol. 44, Suppl 1. – P. 122, abstr. M-084. doi: 10.1007/s10928-017-9536-y

6. Helmlinger G, Kosinsky Y, Chu L, Peskov K, **Voronova V**, Borodovsky A, Woessner R, Sachsenmeier K, Al-huniti N. Abstract 2098: Quantitative modeling as a systematic approach for drug combination evaluation in immuno-oncology (IO) // *Tumor Biology Proceedings: AACR Annual Meeting 2018*; Abstract 2098. *Cancer Res* (2018) Vol. 78 – P. 2098–2098. doi:10.1158/1538-7445.AM2018-2098

7. Y. Kosinsky, L. Chu, K. Peskov, **V. Voronova**, A. Borodovsky, R. Woessner, K. Sachsenmeier, N. Al-Huniti, G. Helmlinger. Quantitative modeling as a systematic approach for drug combination evaluation in Immuno-Oncology (IO)// Abstracts of the 34th Annual Meeting & Pre-Conference of the Society for Immunotherapy of Cancer (SITC 2019). *J immunotherapy cancer.* – 2019. – Vol. 7, № S1. – P. 283, s40425-019-0764-0

8. V. Sokolov, A. Dolgun, **V. Voronova**, T. Yakovleva, H. Schmidt, S. Aksenov, G. Helmlinger, K. Peskov. Evaluation of the utility and efficiency of MATLAB and R-based packages for the development of quantitative systems pharmacology models// PAGE: Abstracts of the Annual Meeting of the Population Approach Group in Europe, 2018, abstr. 8688; URL: <https://www.page-meeting.org/default.asp?abstract=8688>

9. Kosinsky Y, Dovedi SJ, Peskov K, **Voronova V**, Chu L, Tomkinson H, Al-Huniti N, Stanski DR, Helmlinger G. Radiation and PD-1/PD-L1 treatment combinations: immune response and dose optimization via a predictive systems model// **J immunotherapy cancer.** – 2018. – Vol. 6, № 1. – P. 17. doi:10.1186/s40425-018-0327-9

10. Peskov K, Azarov I, Chu L, **Voronova V**, Kosinsky Y, Helmlinger G. Quantitative mechanistic modelling in support of pharmacological therapeutics development in immuno-oncology// **Front Immunol.** – 2019. – Vol. 10 – P. 924. doi: 10.3389/fimmu.2019.00924

11. **Воронова В.М.**, Лебедева С.А., Косинский Ю.А., Секачева М.И., Хельмлингер Г., Песков К.В. Математическое моделирование противоопухолевого иммунного ответа для анализа эффективности комбинированных радиоиммунотерапий с применением PD-1/PD-L1

специфичных антител// Сборник материалов XXVI национального конгресса «Человек и лекарство», 2019, стр. 65

12. Peskov K., **Voronova V.**, Lebedeva S., Sekacheva M., Helmlinger G. Efficacy of combined radio- and immuno-therapies vs. radiotherapy alone in the treatment of brain metastases: a systematic review and meta-analysis// Abstracts of the 34th Annual Meeting & Pre-Conference of the Society for Immunotherapy of Cancer (SITC 2019). J immunotherapy cancer – 2019. – Vol. 7 (Suppl 1): 283 – P. 6-7, abstract P512 doi:10.1186/s40425-019-0764-0

13. **V. Voronova**, L. Chu, Y. Kosinsky, Borodovsky, R. Woessner, K. Sachsenmeier, G. Mugundu, M. S. Merchant, W. Shao, K. Peskov, G. Helmlinger. Anti-tumor synergy evaluation of an AZD4635/ anti-PD-L1 combination therapy using a quantitative systems model// Proceedings of the American Association for Cancer Research – 2019. – Vol. 60 – P. 279 abstract #1082

14. **Воронова В.М.**, Лебедева С.А., Секачева М.И., Хельмлингер Г., Песков К.В. Сравнение эффективности радио- и комбинированной радио- и иммунотерапии: систематический обзор и метаанализ// **Российский медицинский журнал** – 2020. – Том 26, № 1. – P. 67-73. doi: 10.18821/0869-2106-2020-26-1-67-73

15. **Voronova V.**, Lebedeva S, Sekacheva M, Helmlinger G, Peskov K. Quantification of Scheduling Impact on Safety and Efficacy Outcomes of Brain Metastasis Radio- and Immuno-Therapies: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Front. Oncol.** – 2020. – Vol. 10 – P. 1609. doi: 10.3389/fonc.2020.01609

16. **V. Voronova**, S. Lebedeva, M. Sekacheva, G. Helmlinger, K. Peskov. PD-0172 Radio/immuno-therapies of brain metastasis disease: A meta-analysis of efficacy and safety outcomes// Radiotherapy and Oncology (2020) 145 Suppl.1 S93-94

### Список сокращений

- CTLA-4** – цитотоксический Т-лимфоцит-связанный протеин 4 (от англ. cytotoxic T-lymphocyte associated protein-4)
- 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-L1** – лиганд к белку программируемой клеточной смерти 1 (от англ. programmed cell death-ligand 1)
- PRISMA** – предпочтительные элементы отчетности для систематических обзоров и метаанализа (от англ. preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses)
- ДИ** – доверительный интервал
- ИКТИ** – ингибиторы контрольных точек иммунитета
- ЛОК** – локальный опухолевый контроль
- НМСЭ** – нелинейные модели смешанных эффектов
- ОДУ** – обыкновенное дифференциальное уравнение
- ООВ** – одногодичная общая выживаемость