

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Эндогенные биорегуляторы в терапии рака

В. Р. Нахамияев

Отдел хирургии печени (зав. -проф. Э.И. Гальперин)
Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова

Endogenous Bioregulators in Cancer Therapy

V.R. Nakhainijaev

Liver Surgery Department I.M. Sechenov Moscow
Medical Academy (Director - Prof. E.I. Galperin)

Новые представления и открытия в онкологии подталкивают специалистов к необходимости переосмысления традиционных подходов в лечении рака. В этом плане мнение онкологов во всем мире совпадает: нужно лечить не конечное следствие в виде онкозаболевания, а сначала определить поломку в системе иммунной защиты. Этим и объясняется то, что сегодня многие ученые заняты поиском эндогенных биорегуляторов, способных активизировать защитные силы организма или непосредственно губительно влиять на опухоль.

История возникновения биотерапии

Ученые давно предполагали существование биологически активных веществ и возможность их использования для лечения рака. На это наталкивали сообщения в научной печати о вполне достоверных случаях спонтанного исчезновения опухолей человека, не подвергавшихся лечению или же подвергавшихся только симптоматическому или паллиативному лечению [12, 30, 33]. В этих случаях спонтанного самоизлечения, как отмечали авторы, возможны две ситуации: 1) обратное развитие и полное исчезновение опухоли, собственно регрессия, и 2) утрата опухолевой тканью злокачественности путем резкого повышения дифференцировки опухолевых клеток, в результате которого опухоль может превратиться в доброкачественную опухоль или даже в нормальную, гомологичную опухоли ткань.

Н.Н. Петров еще в 50-е годы придавал большое значение фактам спонтанной регрессии злокачественных опухолей, т.е. разрушению их защитными силами своего организма. Он считал, что существуют силы и средства, которые могут задержать злокачественный процесс, оказывая повреждающее воздействие на опухолевые клетки и стимулируя защитные силы организма.

К спонтанной регрессии опухолей близко стоит феномен "дремлющих" опухолевых клеток [12, 14, 22]. Если дремлющие опухолевые клетки, находясь в организме, могут в течение длительного времени (обычно 10—15 лет) не проявлять признаков злокачественного роста, то не вызывает сомнений, что это явление заслуживает самого тщательного изучения. По-видимому, этим объясняются и так называемые дремлющие метастазы, появляющиеся иногда через многие годы и даже десятки лет после удаления первичного рака.

С другой стороны, известно, что удаление первичной опухоли нередко не только не препятствует метастазированию, но может даже ускорить развитие этого процесса. И здесь, поэтому интересна гипотеза, сформулированная еще в 50-х годах, о существовании "ингибирующего влияния" опухоли на процесс метастазирования. Если исходить из этой гипотезы, то стимуляция процесса метастазирования, вызванная удалением первичной опухоли, может быть связана с "отменой" этого ингибирующего влияния опухоли. Однако, существование "фактора", секретируемого опухолью и способного подавлять процесс метастазирования экспериментально не было подтверждено [61].

Таким образом, приведенные данные позволяли предположить, что причинами спонтанной регрессии, состояния дремоты опухолевых клеток и подавления опухолью развития метастазов явля-

ются, вероятно, различные эндогенные факторы, происходящие в самой опухоли и опосредованные реакцией организма на растущую опухоль.

Принимая во внимание вышеизложенное, представляются интересными имеющиеся в литературе различного рода сообщения о поиске и использовании против раковой пролиферации собственных эндогенных веществ организма.

Впервые идея введения экстрактов органов и тканей для лечения рака родилась в начале века в связи с полученными в эксперименте данными о роли селезенки, а затем и других органов в сопротивляемости опухолевому росту. В 1911 г. Браунштейн начал делать пересадки ткани селезенки мышам перед трансплантацией им опухоли и наблюдал понижение процента положительных перевивок со 100 до 40. В дальнейшем он выделил из селезенки вещество, названное им спленотеланом, которое он вводил не только экспериментальным животным, но и больным. При этом в крови увеличивалось количество моноцитов, а сыворотка крови этих больных приобретала свойство подавлять рост опухолевых клеток в тканевых культурах [12]. Противоопухолевое действие препаратов из селезенки, тимуса и лимфатических желез, в которых очень редко развиваются не только первичные, но и метастатические опухоли, в начале нашего века связывали с функциями ретикулоэндотелиальной системы [15, 23] или с наличием в этих органах "онколитических антибластических" факторов [28].

В этом аспекте интересны первые данные о значении цитотоксических свойств сыворотки крови в рассасывании опухолей, описанных в начале нашего века, в 1905 г. В.В. Подвысоцким [13]. Наблюдая эти процессы у больных при самоизлечении от злокачественных новообразований как эпителиального, так и соединительнотканного происхождения, автор рекомендовал больным применять вещества, которые стимулировали бы "аутолиз и аутофагизм".

Эту концепцию развивал и А.Д. Neuberg [14], который на основании своих наблюдений пришел к выводу, что основным фактором в борьбе организма с развивающимися опухолями следует считать лейкоцитолитическую функцию. Поэтому, для лечения больных с опухолями он повышал лейколитические свойства крови путем рентгенооблучения области селезенки по методу И.И. Манухина [17], дополнив его облучением основных лимфатических узлов ультрафиолетовым светом.

В 1910 г. Freund и Kaminer [57] впервые описали феномен канцеролиза, сущность которого заключалась в том, что при прибавлении к взвеси опухолевых клеток сыворотки нормального человека или определенных видов животных через некоторое время наступало растворение опухолевых клеток. Сыворотка организма, пораженного раком, не только теряла способность растворять опухолевые клетки, но и приобретала свойства защищать их от действия нормальной сыворотки, что считалось особенно характерным признаком, специфическим для злокачественных новообразований. Вместе с тем, падение литической способности наблюдалось также при беременности и при некоторых заболеваниях. Канцеролитическая способность достигала максимума в эмбриональном периоде и постепенно снижалась к старости [56,67].

Было также выявлено, что литической способностью обладала не только сыворотка крови, но и экстракты из органов [28, 56]. Наибольшей растворяющей способностью обладали экстракты из селезенки, тимуса и лимфатических желез, а также из плаценты и почек [71]. В раковом организме не обладали растворяющей способностью не только сыворотка, но и экстракты из органов [12,23].

В дальнейшем было опубликовано большое количество работ, посвященных использованию при лечении опухолевых больных различных тканей или экстрактов из них, которые расценивались как "онколитические" стимуляторы [28, 67, 92] или как неспецифические иммуностимуляторы [6, 12, 14]. Неослабевающий интерес к такому лечению привел к развитию представлений об иммунотерапии рака.

К попыткам применения экстрактов из органов и тканей для неспецифической стимуляции иммуногенеза по механизму действия близко примыкает предложение А.А. Богомольца [6] делать раковым больным повторные переливания небольших количеств крови, которая, подвергаясь коллоидоклазии, оказывает стимулирующее влияние на органы кроветворения и на всю систему соединительной ткани.

С этой точки зрения интерес представляет опыт немецких исследователей [59] по лечению 100 онкологических больных, которым проводилась комплексная терапия с включением неспецифических стимуляторов, таких как консервированная кровь, гемолизат крови, человеческие альбумин и гаммоглобулин. Авторы считают, что такое "дополнительное лечение" способно улучшить результаты длительного лечения больных раком.

Касаясь проблемы иммунологии опухолей, следует отметить, что впервые в экспериментальных работах Иенсена [64, 65] и Эрлиха [46] по изучению противоопухолевого иммунитета показано, что организм животного, у которого рассосалась привитая опухоль, становится иммунным к последующей прививке той же опухоли (при вторичной перевивке опухоли того же штамма второй трансплантат развивается медленно или не развивается вовсе). Позднее это было подтверждено многими авторами.

В этом аспекте представляют особый интерес работы, где авторы с целью активной иммунотерапии пытались создать противоопухолевые вакцины, полагая таким путем предупреждать возникновение не только рецидивов и метастазов, но и самой опухоли.

Принципиальная возможность создания стойкой резистентности организма к развитию опухолевого процесса, как известно, была показана А. Безредко [5]. Ученый установил, что внутрикожное введение кролику взвеси клеток карциномы Брауна-Пирс с последующим их рассасыванием приводит к такому состоянию организма, при котором все дальнейшие попытки трансплантации карциномы дают отрицательный результат. Позднее аналогичные данные были получены и на других моделях опухолей [7, 18].

Клиническим примером может служить вакцина, приготовляемая из облученных лейкозных клеток и применяемая в период ремиссии для предупреждения рецидива заболевания [70], или аутовакцины, предлагаемые для применения послеоперационного удаления опухоли с целью профилактики рецидивов и метастазов [11]. С этой же целью Н.Н. Трапезников с соавт. делали пересадки облученных кусочков аутологичной опухоли (меланомы) больным после удаления всех видимых узлов [27].

Кроме непосредственного торможения роста клеток опухоли и повышения противоопухолевого иммунитета (или повышения чувствительности раковых клеток к противоопухолевому иммунитету) многие исследователи-онкологи придавали немаловажное значение возможности стимуляции опухолевых клеток к дифференцированному росту с превращением в менее вредную или нормальную ткань. Изучая проблему взаимоотношения организма и опухоли, они приходят к выводу, что в будущем на смену "терапии уничтожения" опухолевых клеток придут профилактика и лечение, построенные на регуляции процессов клеточного деления, дифференцировки и поддержания генетического гомеостаза путем активации иммунологического надзора [12, 24, 25]. При этом они исходили из положения об обратимости свойств опухолевых клеток и в частности о способности опухолевых клеток к дифференцировке [9,30-33].

Так, в пользу обратимости свойств опухолевых клеток свидетельствуют и результаты опытов с влиянием на них РНК, выделенной из нормальных тканей [1, 48, 75]. Наблюдаемое в таких условиях торможение роста опухоли авторы объясняют не гибелью опухолевых клеток, а их трансформацией [8,21].

Примером терапии, базирующейся не на уничтожении опухолевых клеток, а на регуляции их жизнедеятельности, может служить, например, гормональное лечение опухолей, имеющих дисгормональное происхождение [10, 29]. При этом также удается добиться не только торможения развития опухоли, но иногда и повышения степени их дифференцировки [29].

В результате многочисленных работ, изучающих регуляцию процессов клеточного деления и дифференцировки, было обнаружено, что во всех клетках образуются вещества, которые можно рассматривать как внутриклеточные гормоны [10]. Эти вещества (циклические производные монофосфата, простагландины, кейлоны и др.) регулируют процессы обмена веществ в клетках, их размножение и дифференцировку, служат медиаторами действия гормонов и сами влияют на их выработку.

Так, например, известно влияние цАМФ на функции лимфоцитов [40], а в опытах на культурах тканей показано, что трансформированные клетки содержат уменьшенное количество цАМФ, что

может играть определенную роль в неконтролируемом размножении клеток, в их "глухоте" к регулирующим влияниям.

Также известно, что простагландины, секретируемые практически всеми типами клеток организма, включая опухолевые, играют важную роль в регуляции противоопухолевой активности макрофагов [2].

Особый интерес представляют сообщения об экстрагированных из клеток и тканей веществах - кейлонах (или халонах), являющихся видонеспецифическими тканеспецифическими ингибиторами клеточной пролиферации.

Впервые Berenblum et al. в 1967 г. выделили из селезенки барана активный фактор, названный ими RLP (radiation leukaemia protection), предотвращающий лейкоз, вызванный облучением. Наилучшие результаты получали в тех случаях, когда RLP давали экспериментальным животным в день облучения [39].

В настоящее время известно до 30 эндогенных частично очищенных ингибиторов [3]. Описаны некоторые их биологические и химические свойства. Большинство из них исследовано на здоровых клетках.

Кроме того, частично очищенные экстракты были получены из многих опухолевых тканей. Эти экстракты обладали способностью подавлять пролиферацию гомологичных клеток [41, 69, 71, 81].

Такие вытяжки применялись против опухолей, исходящих из тех же тканей. Ожидания были огромными: использовать в борьбе против рака собственные избирательно действующие ингибиторы организма вместо чужеродных организму, токсических неспецифических цитостатиков.

Было показано, что в противоположность теории Роуза [84] самые разнообразные раковые клетки сохраняли реактивность по отношению к халонам (хлорлейкемия крыс, лимфома L-5178 мышей, опухоль кожи VX2 кроликов и др.) [3, 4].

Механизм действия специфических эндогенных ингибиторов, подавляющих рост опухолей, неизвестен. Возможно, продолжительная остановка клеточного цикла облегчает активацию защитных механизмов, скажем, действие активированных макрофагов на опухолевые клетки, или активирует лимфоциты и гранулоциты, которые также принимают участие в спонтанных регрессиях [4].

Первые надежные результаты, полученные на человеке, были опубликованы финско-английской группой исследователей в 1976 г. [87]. Они лечили 5 больных острым и 2 больных хроническим миелоидным лейкозом, используя препарат "миелостат" (частично очищенный экстракт гранулоцитов). Препарат вводили внутривенно в течение 4-5 сут. Удалось достигнуть временной, а в одном случае полной ремиссии. В отличие от цитостатиков миелостат усиливал образование эритроцитов и тромбоцитов и даже вызывал иммуностимуляцию. К сожалению, они не могли применить большие дозы, т.к. вещество было очищено частично, а оставшиеся примеси вызывали повышение температуры тела и другие нежелательные эффекты.

Однако следует отметить, что по данным многочисленных экспериментов, подавленное клеточное деление возобновлялось (даже усиливалось), когда лечение прерывали. Также О.Н. Iversen в 1980 г. весьма логично доказывал, что хотя с помощью халонов действительно можно замедлить пролиферацию опухолевых клеток и достигнуть временной регрессии опухоли, все же за этой регрессией не обязательно следует выздоровление [62]. Несмотря на это, интерес к кейлонам не угасает, однако механизм их действия до сих пор не ясен.

Современное состояние биотерапии рака

В 80-90-е годы были сделаны выдающиеся открытия в сфере молекулярной и клеточной биологии, благодаря которым достигнуты значительные успехи в области диагностики и лечения опухолей. Сегодня не вызывает сомнений значение роли нарушения иммунного статуса человеческого организма в возникновении опухолевых заболеваний. Исследованы роли клеток-эффекторов (макрофагов, натуральных киллеров - НК-клеток, лимфокинактивированных клеток - ЛАК, цитотоксических лимфоцитов и др.) и вырабатываемых ими цитокинов, принимающих участие в реализации противоопухолевой защиты.

Цитокины, ЛАК и ЛИО в иммунотерапии рака

В настоящее время наиболее широко в противоопухолевой терапии используются цитокины (интерфероны, интерлейкины - ИЛ, факторы некроза опухолей - ФНО и др.) [19, 78, 79]. Они активируют функции иммунокомпетентных клеток и усиливают резистентность организма к опухоли. Положительное влияние цитокинов при коррекции иммунной системы состоит в активации: антигеноспецифических Т-лимфоцитов, цитотоксичности моноцитов и макрофагов, цитотоксичности киллерных клеток, а также в усилении экспрессии антигенов гистосовместимости на опухолевых клетках (что способствует распознаванию опухолевых клеток клетками иммунной системы). Ряд цитокинов являются непосредственными медиаторами цитотоксичности других эффекторных клеток.

Кроме того, цитокины как вещества, прямо оказывающие влияние на дифференцировку клеток, представляют удобный рычаг терапевтического воздействия на малигнизированные клетки. Токсичность и другие осложнения лечебных препаратов цитокинов отсутствуют у их индукторов [19].

Перенос активированных вне организма аутологичных лимфоцитов с выраженной противоопухолевой активностью в настоящее время является одним из перспективных способов лечения злокачественных новообразований различной этиологии. Оно осуществляется в виде трех основных методических приемов [19].

1. Перенос лимфоидных клеток периферической крови, стимулированных в культуре *in vitro* ИЛ-2 (ЛАК). Иногда он сочетается с одновременным применением ИЛ-2 [86].

2. Использование в качестве эффекторных клеток лимфоцитов, выделенных из опухоли (ЛИО). Длительное, в течение 1-2 мес, культивирование таких лимфоцитов позволяет накопить значительные количества клеток, обладающих высокой киллерной активностью в отношении только тех опухолей, из которых они были выделены [85].

3. Перенос лимфоцитов, стимулированных в культуре *in vitro* аутологичными опухолевыми клетками в присутствии ИЛ-2 и ряда других ростовых факторов. Такой вид активации увеличивает количество цитолитических клонов против опухоли конкретного пациента [79].

Адоптивный перенос популяции ЛАК одновременно с ИЛ-2 вызывал регрессию легочных, печеночных и подкожных метастазов у мышей с неиммуногенной саркомой, меланомой, аденокарциномой. Была выявлена прямая корреляция между терапевтическим эффектом, дозой вводимого ИЛ-2 и количеством ЛАК.

В обзорной работе S.A. Rosenberg [86] нашли отражение данные о 178 больных раком почек или меланомой. После проведения терапии с помощью ЛАК и ИЛ-2 у 10% больных наблюдалась полная и у 20% - частичная регрессия метастатических опухолевых очагов. Полная регрессия метастазов отмечена в 15% случаев при раке кишечника, частичная регрессия - при опухолях легких, печени, мозга, кожи, подкожных тканей, лимфомах и др. Особенно выраженный эффект от подобной терапии был отмечен при метастатических меланоммах: 5-летняя выживаемость составила 25%, тогда как при использовании только одного ИЛ-2 она была в пределах 3-5%.

Более выраженный эффект наблюдали при введении ЛАК в комплексе с другими факторами иммунитета непосредственно в ткани, окружающие опухолевый очаг или в область опухолевого роста, а также в ткани на месте удаленной опухоли [74,86].

Следует отметить, что, несмотря на сравнительно небольшое число побочных эффектов, существует ряд проблем, препятствующих введению ЛАК больным с опухолями. Например, значительная трудоемкость проведения 3-5 необходимых процедур лимфоцитозера, которые не каждый больной способен выдержать, возможность образования микротромбов при внутривенной реинфузии ЛАК, т.е. существует достаточно много противопоказаний для применения метода.

Попытки отыскать специфические клетки-киллеры в самом организме-опухоленосителе привели к выявлению таких клеток непосредственно в самой опухоли. Их так и назвали - лимфоциты, инфильтрирующие опухоль (ЛИО) [85]. В экспериментах на животных было установлено, что выделенные из солидных опухолей и использованные в терапевтических целях ЛИО в 50-100 раз более эффективны, чем ЛАК. Введение ЛИО совместно с ИЛ-2 и циклофосфамидом животным с метастазами в легкие (14-суточные) или печень (8-суточные) способствовало полной их

регрессии. При внутривенном введении ЛИО в организм опухоленосителя все клетки мигрируют в область опухолевого роста и там накапливаются. Отмечалась высокая степень специфичности этого процесса. Локальное облучение опухоли в эксперименте с одновременным введением ЛИО и ИЛ-2 оказывает синергичный эффект. Микро- и макрометастазы при этом подвергаются полной деструкции.

ЛИО являются долгоживущими клетками, сохраняющими свою противоопухолевую активность в течение нескольких месяцев. У мышей, имеющих легочные микрометастазы, после введения ЛИО и ИЛ-2 отмечались деструкция, разрушение метастатических очагов в первые же недели после обработки, но биологически активные клетки циркулировали в организме еще на протяжении 3 мес.

В настоящее время ведутся поиск и разработка оптимальных способов и схем применения ЛИО в онкологической практике.

Метод использования ЛИО в сочетании с ИЛ-2, ФНО, различными типами интерферонов является более щадящим в сравнении с применением ЛАК: нет необходимости в проведении многократных лимфоцитозферезов, эффекторные клетки выделяются из удаляемой опухолевой ткани при хирургической операции. Существенным недостатком метода является необходимость длительного (1-2 мес) культивирования лимфоцитов-киллеров *in vitro*. В техническом отношении этот процесс трудоемок, дорог и даже в хорошо оснащенной лаборатории не всегда может привести к желаемому результату.

Моноклональные антитела и противоопухолевые вакцины в специфической иммунотерапии рака

Различия в экспрессии антигенов между опухолевыми и нормальными клетками организма позволяют расширить возможности лечения ряда онкологических заболеваний [88].

Принципиально существуют два подхода к использованию антигенных различий между опухолевыми и нормальными клетками. Первый заключается в пассивной иммунотерапии больного посредством введения противоопухолевых моноклональных антител, второй — в активации иммунной системы больного вакцинами, содержащими эти антигены. Предклинические исследования показали эффективность обоих подходов.

Так, введение мышам с опухолью толстой кишки гуманизированных моноклональных антител (huKS 1/4-14-2) приводило практически к 80% излечению животных [94]. Изготовление гуманизированных или "очеловеченных" антител стало необходимым после того, как была показана высокая эффективность их мышинных аналогов. При клиническом изучении моноклональных антител (1131-mAb АБ33) у 5 из 23 больных зарегистрирован противоопухолевый эффект [90].

Albertini et al. [36] сообщает о проведении 1 фазы клинических испытаний применения моноклональных антител у больных меланомой. Значительное повышение биологической активности ИЛ-2 отмечено в сыворотке больных в течение 12 часов после введения моноклональных антител.

Одним из методов пассивной специфической иммунотерапии является использование конъюгатов моноклональных антител к опухолевым антигенам с токсинами или радиоактивными препаратами. Эти препараты были так и названы - иммунотоксины. Их действие направлено против опухолеассоциированных антигенов.

Существенным недостатком этих препаратов является возможность перекрестных реакций с нормальными типами клеток, а также их высокая иммуногенность. Большинство моноклональных антител представлено мышинными белками, способными вызывать иммунные реакции у людей. Поэтому, в клинической практике применению иммунотоксинов иногда предшествует иммуносупрессивная терапия [19].

Гибридная биотехнология позволяет получать большое число клонов, вырабатывающих моноклональные антитела к опухоли разной специфичности, но лишь 5-25% из них могут потенциально использоваться для получения иммунотоксина.

Иногда в качестве конъюгатов для токсинов используют ростовые факторы, в этом случае они называются онкотоксины. Ростовые факторы активно связываются и с нормальными клетками организма, но опухолевые клетки имеют к ним на своей поверхности намного больше рецепторов.

Известны онкотоксины, в основе которых используются фибробластный фактор роста, эпидермальный фактор роста, ИЛ и др. Их преимущества состоят в отсутствии иммуногенных свойств, высокой аффинности рецепторов к ним, в возможности получать их в неограниченных количествах без изменения первоначальной специфичности. Существенным недостатком является относительно короткий период полураспада *in vivo*, что требует длительного, постоянного их введения [38]. Они способны стимулировать рост некоторых линий опухолевых клеток. Несмотря на эти недостатки, они проходят в настоящее время фазу клинических испытаний.

Вакцинация - это другой путь использования антигенных отличий опухоли для ее лечения. В настоящее время вакцинация проводится, как правило, больным с распространенным опухолевым процессом.

Иммунный ответ на опухолеассоциированные антигены наблюдается в относительно небольшом проценте случаев (около 20%) и процент увеличения продолжительности жизни также невелик (около 17%). Тем не менее это реальный эффект от самого щадящего способа лечения онкологических заболеваний, который в частности для 157 больных с висцеральными метастазами меланомы (AJCC стадия IVb) выразался в увеличении 5-летней выживаемости с 6 (при лечении традиционными методами) до 25% при лечении вакциной CancerVax [72].

Проводятся более широкие исследования по возможности использования в качестве адьювантной терапии вакцин на основе раково-эмбрионального антигена. В США [16] вакцина, созданная на основе рекомбинантного РЭА, успешно проходит 1 фазу клинических испытаний.

Противоопухолевые вакцины, приготовленные на основе клеточного материала также проходят 1 и 2 фазы клинических исследований. *Bystryn et al.* [42] приводит результаты рандомизированного слепого исследования адьювантного применения поливалентной вакцины из аллогенных клеточных линий меланомы в сравнении плацебо у 38 больных меланомой 3 стадии. При среднем времени наблюдения 3.3 года продолжительность безрецидивного периода значительно выше в группе больных, которым проводилась вакцинотерапия. *Cebon et al.* [43] иммунизировали больных диссеминированной меланомой, используя антиген (пептид MART-1) в комбинации с ИЛ-12. Полная ремиссия наблюдалась у 1 пациента, еще у одного - частичная регрессия и смешанный эффект - у 1 больного. Значительное повышение активности цитотоксических лимфоцитов отмечено именно у этих больных. В исследование всего было включено 15 пациентов.

Новые перспективы в противоопухолевой вакцинотерапии открывает использование дендритных клеток (DCs) (антиген презентующие макрофаги). *Weber et al.* инкубировали аутологичные DCs больных диссеминированной меланомой с опухолевыми антигенами меланомы [93]. Далее инкубированные DCs вводились внутривенно 15 больным. Полная регрессия опухоли отмечена у 1 больного, частичная регрессия - у 1 больного. Еще у 2 больных зафиксирована стабилизация болезни и у 2 больных смешанный эффект. Исследователи планируют проведение 2 фазы клинических испытаний DCs вакцинотерапии.

Генная терапия опухолей

Благодаря достижениям современных генных технологий, генная терапия является одним из наиболее перспективных и интересных направлений в клинической онкологии [20]. Она развивается в нескольких направлениях:

1. Создание "суицидального" гена, который снимает резистентность опухолевых клеток к цитотоксическим агентам. Например, опухолевые клетки, в геном которых встраивали ген тимидинкиназы вируса герпеса (HVS), приобретают чувствительность к ганцикловиру.

2. Включение в геном нормальных клеток "протективного" гена, повышающего их резистентность к цитостатикам. Так, *R. Abonour et al.* [35] для интенсификации химиотерапевтических режимов встраивали в геном нормальных стволовых клеток костного мозга больных с опухолями ген множественной лекарственной устойчивости (MDR-1). У одного пациента генетически модифицированные клетки определялись в течение года, у 7 больных в течение месяца и у 3 больных в течение 3 месяцев после проведенной химиотерапии.

3, Помещение генов, кодирующих синтез различных цитокинов, в геном лимфоцитов или геном опухолевых клеток; создание генетически модифицированных опухолевых вакцин.

B. Anderson et al. [37] описали иммуномодулирующее действие синтетической вакцины, созданной на основе продукта онкогена HER-2/neu, которую вводили внутривенно 9 больным раком молочной железы и яичников в комбинации с 250 мкг цитокина GM-CSF (гранулоцитомакрофагальный колониестимулирующий фактор). Значительная активация пролиферации лимфоцитов отмечена у 7 больных.

Figlin et al. [49] осуществляли интратуморальное введение больным почечноклеточным раком плазмиды (вирусоподобной структуры, состоящей из двунитчатой кольцевой ДНК), инкапсулированной в липосомы и несущей ген ИЛ-2. У 2 из 14 пациентов отмечен объективный эффект продолжительностью более 15 месяцев. Интересно отметить, что у одного больного положительная динамика в виде уменьшения размеров опухолевого узла более чем на 50% зафиксирована со стороны образования, которое не подвергалось интратуморальной вакцинации.

Стимуляция апоптоза в терапии рака

Исследования молекулярной биологии не так давно открыли феномен, объясняющий причину "бессмертия" раковой клетки. Он состоит в том, что большинство злокачественных клеток не умеет и не может претерпевать апоптоз (запрограммированную смерть). Раковая клетка как бы "забывая" о смерти и не подчиняясь этому механизму, по сути, становится бессмертной.

Генная терапия, основанная на процессах программируемой гибели клетки, является привлекательной перспективой в лечении злокачественных новообразований [20,43].

Сегодня есть новое направление, связанное с влиянием на онкоген Р-53, запускающий механизм апоптоза. Насколько это важно, можно проследить на примере опухоли яичка. В семиноме Р-53 не мутирован, как в большинстве опухолей, а нормален. Поэтому достаточно 1—2 курсов химиотерапии и опухоль начинает разрушаться, исчезать. Сейчас в США ведутся исследования по внедрению в другие опухоли вместо мутированного гена Р-53, неспособного вызвать апоптоз, нормального.

J. Nemunaitis et al. [73] использовали такой же подход у больных с резистентными формами плоскоклеточного рака головы и шеи. В исследование было включено 150 больных. У нескольких больных зарегистрирован объективный положительный эффект при минимальной токсичности.

M.S. Wicha [94] суммировал потенциальные возможности генного подхода к терапии рака молочной железы, основанного на модуляции генов, индуцирующих апоптоз, особенно экспрессии bcl-2*1*.

Стимуляция апоптоза может служить мишенью генной терапии, вместе с тем существуют клинические ограничения в генной терапии рака. Это трудность в доставке терапевтического агента к метастатическим очагам, отсутствие специфичности вирусного вектора, кроме как процесса клеточной гибели. При любом виде генной терапии происходит инфицирование клеток, находящихся в непосредственном контакте с вирусом, однако, этот процесс распространяется на глубину лишь нескольких клеточных слоев. M. Sporn [88], изучивший результаты кампании "война раку", объявленной в США 25 лет назад, вообще ставит под сомнение мечту о генной терапии, направленной на одиночные онкогены или гены подавления опухолей, учитывая то, что клетки в развившихся карциномах содержат многочисленные генетические аномалии, меняющиеся от клетки к клетке.

Ингибиторы ангиогенеза в терапии рака

В настоящее время не вызывает сомнения то, что рост опухоли требует образования новых кровеносных сосудов. Вот почему, многие исследователи считают, что терапия, подавляющая рост опухолевых сосудов может стать одним из важнейших методов лечения рака.

В норме ангиогенез является регулируемым процессом, однако при ряде состояний, к которым относят и злокачественные новообразования [45, 80] запускается "патологический" ангиогенез [84]. В результате этого преинвазивные карциномы (in situ), существующие в течение месяцев или

лет в размере, редко превышающем 2-3 мм³ и обычно клинически не определяемые, становятся васкуляризованными, опухоли начинают расти и давать метастазы.

Holmgren с соавт., показавшие в опытах на мышах, что первичная опухоль ингибирует ангиогенез в отдаленных метастазах [63], предложили новую гипотезу, объясняющую "дремоту" опухоли [76]. Они выявили, что во время подавления ангиогенеза в "дремлющих" метастазах, степень пролиферации опухолевых клеток остается такой же высокой (до 40%) как в растущих метастазах, где ангиогенез не был ингибирован. Напротив, степень апоптоза в клетках опухоли была вообще низкой (2-3%) в растущих метастазах, но увеличивалась, когда ангиогенез был блокирован. Следовательно, заключают авторы, ингибирование ангиогенеза приводит к торможению роста опухоли путем увеличения апоптоза в клетках опухоли. Этот эффект наблюдали и другие исследователи [68,76,52].

Интересны данные о том, что расширение массы опухоли происходит не только по причине перфузии крови через опухоль, но также вследствие паракринной стимуляции опухолевых клеток с помощью многочисленных факторов роста и матричных белков, образованных новым капиллярным эндотелием [45, 55, 83]. В большинстве опухолей клетки расположены пери-васкулярно в виде микроцилиндров, окружающих каждый сосуд [47]. Такое "тесное" соседство клеток опухоли и эндотелиальных клеток и допускает форму паракринной связи между этими двумя [53, 58] популяциями клеток. Клетки опухоли выпускают эндотелиальные митогены типа bFGF и VEGF и др., в то время как клетки эндотелия производят белки, которые действуют как факторы роста или факторы выживания для клеток опухоли [50, 77].

Определенные отрицательные регуляторы или эндогенные ингибиторы роста сосудов могут защищать клетки эндотелия от митогенных раздражителей. Среди нескольких ингибиторов ангиогенеза, встречающихся в естественных условиях, первым был обнаружен тромбоспондин, который подвергается супрессирующему эффекту во время онкогенеза. Интересно, что в фибробластах человека этот ингибитор ангиогенеза обычно находится под контролем опухолесупрессирующего гена p53. Несмотря на тот факт, что отдельные ангиогенные опухолевые клетки могут иметь пониженное выделение тромбоспондина, опухолевая масса в 1 см³, содержащая приблизительно миллиард клеток, может выделять значительное количество такого ингибитора.

Первый клинический опыт применения антиангиогенного препарата — альфа интерферона — начался в 1989 г. с лечения гемангиомы, представлявшей угрозу для жизни у детей.

В 1992 г. первый антиангиогенный препарат TNP-470 (синтетический аналог фумагиллина) введен в клинические испытания. За последние четыре года были внедрены в клинические испытания, по крайней мере, семь других ингибиторов ангиогенеза.

По мнению J. Folkman [51], являющегося пионером в области развития теории ангиогенеза и разработки методов получения ингибиторов ангиогенеза, "правильным путем лечения рака является игнорирование типа раковых клеток и направление атаки на сосуды, питающие опухоль".

Косвенно измерить ангиогенную активность можно путем количественного определения ангиогенных белков в общей воде организма. Высокие концентрации bFGF были обнаружены в сыворотке крови у более, чем 10% больных раком, и в моче - у более, чем 37% таких больных [80].

O'Reilly M.S. с соавт. [76] исследовали новый ингибитор ангиогенеза - ангиостатин, который накапливается в крови в присутствии увеличивающейся опухоли и исчезает после ее удаления, приводя к быстрому росту метастазов.

Системное назначение человеческого ангиостатина значительно подавляло рост человеческих и мышинных первичных карцином у мышей. У животных он может останавливать почти весь рост кровеносных сосудов в большой опухоли или ее метастазах. Человеческие раки простаты, ободочной кишки и молочной железы, которые были перевиты мышам и вырастали до 1% от веса тела животных, могли быть уменьшены до микроскопических размеров и приведены к состоянию дремоты во время лечения ангиостатином. При этом пролиферация клеток опухоли была сбалансирована апоптозом на фоне заблокированного ангиогенеза [68].

Кроме того, ангиостатин специфично останавливал только множественный искаженный рост эндотелиальных клеток, а не других клеток или обычно статических эндотелиальных клеток. Почти полное подавление роста опухоли наблюдалось без обнаружения токсичности или возникновения устойчивости [52].

Торможение образования новых сосудов ингибиторами ангиогенеза является более медленным процессом, чем распад опухолевых клеток. Поэтому в плане клинических исследований, по мнению исследователей, прием ингибиторов ангиогенеза необходимо назначать для более длительных непрерывных периодов (от нескольких месяцев до года и более), чем прием традиционных цитотоксических агентов [52, 55]. Кроме того, ингибиторы ангиогенеза можно было бы использовать для усиления действия традиционной химио- и радиотерапии и после традиционной терапии, когда больные входят в стадию ремиссии, они могли бы поддерживать метастазы в микроскопическом спокойном состоянии (аналогично наличию инфекции без заболевания). Такая "терапия спокойствием" уже испытывалась на животных, которые продолжали иметь отличное здоровье, несмотря на присутствие дремлющих микрометастазов в легких [52].

В заключение отметим, что до настоящего времени хирургическая операция была и остается наиболее эффективным методом лечения больных раком. В подавляющем большинстве случаев она должна быть дополнена химио- или радиотерапией.

Однако к настоящему времени накопилось большое количество фактов по проблеме биотерапии рака и нами рассмотрены лишь основные и интересные, на наш взгляд, ее разделы. При этом мы являемся свидетелями того, что чем больше раскрывается множество патофизиологических факторов развития рака и его природы, тем больше возникает новых методов лечения.

Известно множество биологических регуляторов, существующих от нескольких минут до нескольких часов в естественных условиях. Использование таких эндогенных биорегуляторов является самым последним дополнением к традиционным методам лечения опухолей. Несомненно, залог успеха во многом определяет применение комплексной терапии, направленной на важнейшие патогенетические механизмы роста и развития опухоли.

Список литературы

1. *Аксенова Н.Н., Бахтин Ю.Б., Воробьев Ю.И., Слепцова Л.М., Оленов Ю.М.* О действии рибонуклеазы на противоопухолевую активность препаратов РНК из нормальных тканей. Цитол. 1965; 7; 1: 94-96.
2. *Архинов С.А.* Роль макрофагов и Т-лимфоцитов в механизме ингибирующего влияния опухоли на процесс метастазирования: Автореф. дис. ... канд.мед.наук. М. 1986.
3. *Балаж А.* Биология опухолей. Сомнения и надежды. М. 1987.
4. *Балаж А., Блажек И.* Эндогенные ингибиторы. М. 1982.
5. *Безредка А.М.* Вакцинация против экспериментальных раковых опухолей. Сов.мед. 1937; 2: 3-6.
6. *Богомолец А.А.* Основные направления моих работ. Избр. труды. 1958: 3: 295-305.
7. *Бриккер Ф.М., Тимофеева Л.И., Батрак Г.Е., Сухотеплый И.Н.* О противоопухолевой вакцинации ослабленными опухолевыми клетками. Труды 1 съезда онкол. УССР.М.-Л. 1940; 1 18-122.
8. *Бутенко З.А.* О влиянии рибонуклеиновых кислот, выделенных из нормальных кровяных тканей, на свойства лейкозноизмененных клеток. В кн.: Гематология и переливание крови. М. 3:38-43.
9. *Васильев Ю.М.* Основные биологические особенности раковой клетки. - В кн.: Биология злокачественного роста. М. 1965; 7-35.).
10. *Дильман В.М.* Эндокринологическая онкология.Л. 1974.
11. *Добран Ю.Г.* Некоторые экспериментальные данные профилактики и терапии метастазов при раковой болезни. Врач. Дело. 1964; 4: 12S.
12. *Кавецкий Р.Е.* Взаимодействие организма и опухоли. К. 1977.
13. *Кавецкий Р.Е.* Опухоль и организм. К. 1962.
14. *Кавецкий Р.Е.* Реактивность организма и опухолевой рост. К. 1981.
15. *Кавецкий Р.Е.* Роль активной мезенхимы в диспозиции организма к злокачественным новообразованиям. К. 1938.

16. Минзюк Л.В., Доненко Ф.В. Адьювантное лечение рака ободочной кишки. Матер, 11-й ежегодной российской конференции: "Современные тенденции развития лекарственной терапии опухолей". М. 1998.
17. Манухин И.И. О лейкоцитоллизе. Русск, врач. 1916; 116:376-377.
18. Мольков Ю.Н. Иммунологические аспекты профилактики, диагностики и терапии рака. М. 1965.
19. Новиков В.И., Карандашов В.И., Сидоронич И.Г. Иммунотерапия при злокачественных новообразованиях. М. 1999, 135 с.
20. Носов Д.А. Биотерапия и генная терапия: новые перспективы в клинической онкологии. М. 1999.
21. Оленов Ю.М. Клеточная наследственность, дифференцировка клеток и канцерогенез как проблема эволюционной генетики. Л. 1967.
22. Острянина А.Д., Пылева З.А., Финогенови М.А. К вопросу о механизме действия неспецифических факторов при развитии злокачественного процесса. В кн.: Реактивность организма и опухолевой рост. 1974: вып. 51.
23. Поляк Н.Р. Изучение канцеролитических свойств сыворотки крови с помощью электронно-оптического автомата: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. К. 1965.
24. Серебров А.И. Об одном из возможных направлений исследований в онкологии. Вопр. онкол. 1975; 21; 8:3-12.
25. Серебров А.И. Прошлое, настоящее и будущее противораковой борьбы. Ереван. 1972.
26. Славина Е.Г. Экспериментальное изучение стимуляции противоопухолевой активности лимфоцитов: Автореферат дис. ... канд. мед. наук. М. 1973.
27. Трапезников Н.Н., Яворский В.В., Свет-Молдавский Г.Я., Клименков А.А., Буачидзе Л.Н., Кадагидзе З.Г. Подходы к иммунотерапии злокачественных меланом. Вест. АМН СССР. 1974; 36: 4: 38-43.
28. Фикера Г. Эндогенные факторы развития опухолей и современное состояние биологической терапии. М-Л. 1936.
29. Хаецкий И.К. Повышение степени дифференцировки малигнизированной ткани как профилактика развития рака. В кн.: Гормонозависимые и гормонообусловленные опухоли человека. К. 1969; 47-51
30. Шибад Л.М. Эволюция концепций бластомогенеза. М. 1979.
31. Шанот В.С. Биохимические аспекты опухолевого роста. М. 1975.
32. Шанот В.С. Актуальные вопросы современной онкологии. М. 1979; 5: 124-140.
33. Швембергер И.Н. Нормализация опухолевых клеток. Л. 1987.
34. Шелег С.В. Выделение и характеристика низкомолекулярного ингибитора лейкозных клеток из ткани селезенки: Автореферат дис. ... канд. мед. наук. Минск. 1994.
35. Ahonour R., Einitoill L., Hull K., et al. Improved MDR-I gene transfer into long-term repopulating cells of patients undergoing autologous transplantation for germ cell tumors (Abstract 1659). American Society of Clinical Oncology 35th Annual Meeting, Atlanta, GA, 1999.
36. Albertini M., Hank J., Surfus J., et al. Antibody-cytokine fusion protein (HU14.18-IL2) retains biologic activity in human serum following in vivo administration for treatment of melanoma (Abstract 16771). American Society of Clinical Oncology 35th Annual Meeting, Atlanta, 1999.
37. Anderson R., Lu J., Ibrahim N. et al. Immunomodulating effects of a HER2/iiieu derived HLA-A2 specific peptide E75 combined with GM-CSF in patients with metastatic breast and ovarian cancer [Abstract 1681]. American Society of Clinical Oncology 35th Annual Meeting, Atlanta, 1999.
38. Bacha P., Forte S., Kussam N. et al. Pharmacokinetics of the combinant fusion protein DAB486IL-2 in the animal models. Cancer Chemother. Pharmacol., 1990, 26, 409-414.
39. Berenblum J., Trainin N., Civadilli G., Boiatochen L., Knyszynski A. Conditions affecting the inhibitory action of RLP on radiation leukaemogenesis in mice, Tumori, 1967, 53, 5-17.
40. Braun W., Shiozawa Ch. Cyclic AMP changes as a consequence of tumor-normal cell interactions. - In: Cyclic AMP, Cell Growth and Immune Response. N.Y., 1974, 349-357.

41. *Bulough W.S., Laurence E.B.* The lymphocytic chalone and its antimitotic action on a mouse lymphoma in vitro. *Europ. J. Cancer*, 1970, 6, 525-531.
42. *Bysiryn J.C., Oratz R., Shapiro R.L., et al.* Double-blind, placebo-controlled trial of a shed, polyvalent, melanoma vaccine in stage III melanoma (Abstract 16731. American Society of Clinical Oncology 35th Annual Meeting, Atlanta, 1999.
43. *Cebon J., Jaeger E., Gibbs P., et al.* Phase I studies of immunization with melan-A and IL-12 in HLA A2+ positive patients with stage III and IV malignant melanoma [Abstract 1671]. American Society of Clinical Oncology 35th Annual Meeting, Atlanta, 1999.
44. *Ceorgiev G.P.* Molecular-Genetic Approaches to Cancer-Treatment. *Chemistry and Biology*, 1998.
45. *Convle-Nash P., Scott D.L.* Angiogenesis and rheumatoid arthritis: pathogenesis and therapeutic implications. *Ann.Rheum.Dis.* 1992; 51 : 919-925.
47. *Eckhardt S.G., Pluda J.M.* Development of angiogenesis inhibitors for cancer therapy. *Investigational New Drugs* 15:1-3,1997.
48. *Esposito S.* Effect on leukaemic cells of ribonucleic acid extracted from calf's spleen. *Nature*, 1964, 203, 4949, 1078.
49. *Figlin R.* Direct gene transfer of a plasmid encoding the IL-2 gene (Leuvectin) as treatment for patients with metastatic renal cell carcinoma (RCC) [Abstract 1662]. American Society of Clinical Oncology 35th Annual Meeting, Atlanta, 1999,
50. *Folkman J.* Addressing tumor blood vessels. *Nature Biotechnology* Vol. 15, 1997.
51. *Folkman J.* Fighting Cancer by Attacking Its Blood Supply. *Sci Am* 1996, 275: 150-154.
52. *Folkman J.* New Perspectives in Clinical Oncology from Angiogenesis Research. *Europ. J. of Cancer* Vol. 32A, № 14, pp. 2534-2539, 1998.
53. *Folkman J.* Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston Vol. 333 № 26.
54. *Folkman J., D' Amore P.A.* Blood vessel formation: what is its molecular formation, *Cell* 1996: 87:1153-1155.
55. *Folkman J., Shing Y., Angiogenesis.* *J. Biol. Chem.* 1992. 267:10931-10934.
56. *Freund E., Kaminer G.* - Biochemie der Krebsdisposition. Berlin. Springer., 1925.
57. *Freund E., Kaminer G.* *Wien. Kl. Woch*, 23, 122, 1910.
58. *Gastl G., Hermann T., Steurer M., Zmija J., Gunsilius E., Unger C., Kraft A.* Angiogenesis as a Target for Tumor Treatment.-*Oncology* 1997.54:177-184.
59. *Gestewitz H.R.* Die Behandlung Krebskranken mit zusatzlichen unspezifischen Mitteln unter Beachtung der Reaktionslage des Organismus-In: *Moglichkeiten der Stimulierung Korpereigener Abwehrprozesse.* Berlin, 1973,118-212.
60. *Gong M.C, Latouche J.-B., Krause A., et al.* Human T cells genetically targeted to prostate-specific membrane antigen (PSMA) lyse prostate cancer cells and proliferate in response to PSMA (Abstract 1657). American Society of Clinical Oncology 35th Annual Meeting, Atlanta, GA, 1999.
61. *Gorelik.* Resistance of tumor-bearing mice to a second tumor challenge In: *Cancer Res.*-1983, Jan.43 (1), P138-145.
62. *Iversen O.H.* Comments on "chalones and cancer", *Med. Age. Dev.*, 1980, 12, 21 1-212.
63. *J.Exp. med.* 1992:175:1 135-1 138.
64. *Jensen C.G.* Experimentelle Untersuchungenuber Krebs bei Mause. *Centr., f. Bakt.*, 1903, 34, 122.
65. *Jensen C.G.* *Ztschr. F. Krebsforsch*, 1909, 7, 279.
66. *Kakeji Y., Teicher B.A.* Preclinical studies of the combination of angiogenic inhibitors with cytotoxic agents. *Investigational New Drugs* 15: 39-48, 1997.
67. *Kretz U., PelU'grini A.* *Wien. Kl. Woch*, 1446-1448, 1925.
68. *Lee K.S., O'Reilly M.S., Liang H., Fortier A.H., Weixuan He, Madsen J.W., Lapcevic R., Nacy C.A.* Recombinant Human Angiostatin Protein Inhibits Experimental Primary and Metastatic Cancer. *Cancer Research* 57,1329-1334, April 1, 1997.
69. *Lowell G.H., Papageorgiuu P.S., Glade P.P.* Reversible inhibition of human lymphoid cell DNA synthesis by extracts of human breast cancer cells. (Abstract), *Fed. Proc.* 1975,34,1042.

70. *Mathe G., Pouillart P.* Attempts of immunotherapy of 100 acute lymphoid leukemia patients: some factors influencing results. - In: Investigation and stimulation of immunity in cancer patients, Berlin-Heidelberg-New York, Springer-Verlag, 1974.434-448.
71. *Mohr U., Althoff., Kinzel V., Suss R., Volum M.* Melanoma regression induced by "chalone": a new tumor inhibiting principle acting in vivo, *Nature* 1968, 220, 138-139.
72. *Morion D.L., Foshag L.J., Hoon D.S.B. et al.* *Ann. Of surgery* 1992, 216, p. 463-482.
- 73 *Nemunaitis J., Bier-Laning CM., Costenla-Figueiras M. et al.* Three phase II trials of intratumoral injection with a replication-deficient adenovirus carrying the p53 gene (AD5CMV-P53) in patients with recurrent/refractory head and neck cancer (Abstract 1661). American Society of Clinical Oncology 35th Annual Meeting, Atlanta, GA, 1999.
74. *Nitta T., Sato K., Yagita H. et al.* Preliminary trial of specific targeting therapy malignant glioma. *Lancet*, 1990, 335.
75. *Niu M.C.* Effects of ribonucleic acid on mouse ascites cells. *Science*, 1960, 131,3409, 1321.
76. *O'Reilly M.S., Holmgren L., Chen C., Folkman J.* Angiostatin induces and sustains dormancy of human primary tumors in mice. *Nature medicine*. Vol. 2, number 6,1996.
77. *Oliver S.J., Banquerigo M.L., Brahn E.* Suppression of collagen-induced arthritis using angiogenesis inhibitors, AGM-1470, and microtubule atabilizer, taxol. *Cell Immunol.* 1994.157.291-299.
78. *Ortaldo J.R., Oldham R.K., Cannon G.C., Herberman R.B.* Specificity of natural cytotoxic reactivity of normal human lymphocytes against a mieloid leukemia cell line, *J. Nat. Cancer Inst.*, Г977, 59, 77-82.
79. *Osmond M.E., Ross S.* Problems in the investigational study and clinical use of cancer immunotherapy. *Immunology today*, 1990,11,6,193-195.
80. *Paleolog EM.* Angiogenesis: a critical process in the pathogenesis of RA-a role for VEGF. *Br.J. Rheumatol.* 1996:35:929
81. *Paraf A., Marcmand G.C., Aubry J., Duberf L.M.* Inhibition of murine plasmacytoma TEPC 15 by its specific antigen, *Nature* 1975, 255, 488-489.
82. *Parangi S, O'Reilly M., Christofori G., Holmgren L., Grosfeld J., Folkman J., Hanahan D.* Antiangiogenic therapy of transgenic mice impairs de novo tumor growth. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol. 93. pp. 2002-2007. March 1996 *Medical Sciences*
83. *Polverini P.J.* The pathophysiology of angiogenesis. *Crit.Rev.Ora.Biol.Med* 1995:6:230-247
84. *Rose S.M.* Failure of self-inhibition in tumors, *J. Nat. Cancer Inst.*, 1958, 20, 653-664.
85. *Rosenberg S.A.* Adoptive immunotherapy of cancer using lymphokine activated killer cells and recombinant interleukin-2, in *Do VittaV.T., Hellman S., Rosemberg S.A.*(eds). *Important Advances in Oncology*, Philadelphia, Lippincott J.D., 1986, 55-91 .
86. *Rosenberg S.A.* Principles and applications of biologic therapy in Cancer: principle and practice of Oncology, edit. *V.T.De Vitta et al.*, 1993 17, 293-324.
87. *Rytomaa T., Vilpo .I.A., Levantu A., Jones W.A.* Effect of granulocyte chalone on acute and chronic granulocytic leukaemia in man. Report of seven cases, *Scand. J. Haemat.*, 1976, suppl. 27, 5-28.
88. *Sporn M.* The war on cancer. *Lancet* 1996:347:1377-81.
89. *Sznol M., Holmund J.* Antigen-specific agents in development. *Seminars in Oncology.* 1997, v. 24, p. 173-186.
90. *Tschmelitsch J., Burendswaard E., Williams C. et al.* Enhanced antitumor activity of combination radioimmunotherapy (131I-labeled monoclonal antibody A33) with chemotherapy (fluorouracil). *Cancer Res.*, 1997, v. 57, p. 2181-2186.
91. *Twardowski P., Gradishar W.J.* Clinical trials of antiangiogenic agents. *Current Opinion in Oncology* 1997. 9:584-589.
92. *Wattermann.* *Bioch. Zeitschr.*, 188, 65, 1927.
93. *Weber J.S., Jeffery G., Marty V., et al.* A phase I trial of GPI00/tyrosinase peptide-pulsed dendritic cells for metastatic melanoma [Abstract 1664]. American Society of Clinical Oncology 35th Annual Meeting, Atlanta, 1999.
94. *Wicha M.S.* II Потенциальная роль генной терапии и лечении и профилактике рака молочной железы // Из матер, конфер. *Breast Cancer Symposium*, 1998.

95. *Xiang R., Lode H.N., Dolman C.S. et al.* Elimination of established murine colon carcinoma metastases by anti-body-interleukin 2 fusion protein therapy. *Cancer Res.*, 1997, v. 57, p. 4948-4955.