ФОТОДИТАЗИН® [fotoditazin]

фотосенсибилизатор хлоринового ряда

«ФОТОДИТАЗИН®» гель - РУ № ФСР 2012/130043 от 03.02.2012 г.
«ФОТОДИТАЗИН®» концентрат для приготовления раствора для инфузий - РУ № ЛС 001246 от 18.05.2012 г.

«ФОТОДИТАЗИН®» применяется для флюоресцентной диагностики и фотодинамической терапии онкологических заболеваний различных нозологических форм, а так же патологий не онкологического характера в следующих областях медицины:

- дерматология
- гинекология
- урология
- торакальная хирургия
- стоматология
- нейрохирургия
- офтальмология, травматология и ортопедия
- комбустиология
- гнойная хирургия
- ангиология

В соответствии с приказами МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РФ:
Приказ № 1629н от 29 декабря 2012 г.
«Об утверждении перечня видов высокотехнологичной медицинской помощи»
Приказ № 915н от 15 ноября 2012 г. «Об утверждении порядка оказания медицинской помощи взрослому населению по профилю «онкология»

www.fotoditazin.com
www.фотодитазин.рф

ООО "ВЕТА-ГРАНД"

123056, Россия, г.Москва, ул. Красина, д.27, стр.2
тел.: +7(499)253-61-81, +7(499)250-40-00
e-mail: fotoditazin@mail.ru

Российский Биотерапевтический Журнал · 2016 · том 15 · №1

ISSN 1726-9784

Российский Биотерапевтический Журнал

Rossiysky Bioterapevticheskiy Zhurnal

Материалы XIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием

«ОТЕЧЕСТВЕННЫЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ПРЕПАРАТЫ»

памяти А.Ю. Барышникова

Москва,
17–18 марта
2016 г.

Russian Journal of Biotherapy

1 | ТОМ 15 2016

МЫ МОЖЕМ

ОБЪЕДИНЯТЬ УСИЛИЯ

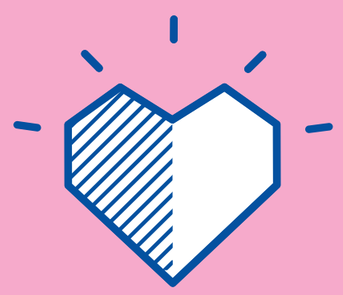
ВСЕМИРНЫЙ ДЕНЬ БОРЬБЫ ПРОТИВ РАКА

WORLDCANCERDAY.ORG

Вдохновлять

Я МОГУ

Любить



ПРИСОЕДИНЯЙТЕСЬ К НАМ 4 ФЕВРАЛЯ

Международный Противораковый Союз (UICC)
ежегодно проводит Всемирный День борьбы против рака,
призывая к организации мероприятий, направленных
на повышение информированности населения
об онкологических заболеваниях и развенчании мифов,
связанных с этими заболеваниями.

В этом году Международный Противораковый Союз проводит
мероприятия Всемирного Дня борьбы против рака под лозунгом
«МЫ МОЖЕМ. Я МОГУ»,
призывая каждого и всем вместе оказать поддержку
борьбе против рака.

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина» Минздрава России,
являясь партнером и членом организации Международный
Противораковый Союз, приглашает всех ознакомиться
с материалами, которые распространяет Международный
Противораковый Союз (UICC), на сайтах:

www.worldcancerday.org

www.uicc.org

Компания АЛЬГИМЕД

Комплексное оснащение лабораторий с 2004 года

Альгимед

Предлагаем широкий выбор лабораторного оборудования,
расходных материалов, наборов и реагентов, химических реактивов,
фармакологических стандартов, клеточных линий и сред и многое другое.

Спектр деятельности

- Клеточная биология
- Молекулярная биология
- Клиническая диагностика
- Решения для криминалистики
- Фармацевтическая аналитика
- Хроматография
- Химические реактивы
- Общелабораторное оборудование
- Лабораторное стекло и пластик
- Сервисная и аппликационная поддержка, обучение

Преимущества

- лаборатории «под ключ»
- комплексный, индивидуальный подход в решении Ваших задач
- забота о Ваших интересах, поддержка научных проектов
- качественная продукция от мировых производителей
- профессиональное обслуживание, сервис и поддержка

Будем рады с Вами сотрудничать!

В Беларуси: т./ф. +375 (17) 202 43 02, МТС + 375 (33) 665 73 25, Vel. +375 (44) 765 75 23
В России: т./ф. +7 (499) 758 08 75, + 7 (499) 737 89 43
В Казахстане: т. + 7 (747) 026 59 69, + 7 (701) 973 48 47

mail@algimed.by mail@algimed.ru info@algimed.kz
www.algimed.by www.algimed.ru www.algimed.kz

Компания АЛЬГИМЕД

Комплексное оснащение лабораторий с 2004 года

Системы очистки воды

- Системы для получения воды тип I
- Системы для получения воды тип II
- Системы для получения воды тип III

Решения для криминалистики

- Наборы для выделения ДНК
- STR-наборы
- Секвенаторы
- Станции выделения и пробоподготовки ДНК
- Программное обеспечение
- Общелабораторное оборудование и расходные материалы

Общелабораторное оборудование

- Центрифуги
- Вортексы
- Микроскопы
- Термостаты
- Климатические камеры
- Морозильные камеры
- Инкубаторы
- Сушильные шкафы
- Водяные бани
- Шейкеры, ротаторы, рокеры
- Магнитные и механические мешалки
- Ламинарные боксы
- Генераторы газов
- Денситометры
- Гомогенизаторы
- Дозаторы
- Синтезаторы пептидов
- Системы очистки воды

Хроматография

- Хроматографы жидкостные низкого давления
- Хроматографы жидкостные среднего давления
- Хроматомасс-спектрометры жидкостные
- Хроматографы флэш
- Твердофазная экстракция (ТФЭ)
- Тонкослойная хроматография (ТСХ)
- Колонки хроматографические для ВЭЖХ, ГХ
- Шприцы Hamilton
- Фильтры мембранные и шприцевые
- Растворители и стандарты для хроматографии
- Расходные материалы

Лабораторное стекло и пластик

- Наконечники для дозаторов
- Наконечники для роботизированных систем
- Микропробирки для ПЦР
- Центрифужные пробирки
- Плашки для ПЦР
- Планшеты для ИФА
- Чашки Петри культуральные
- Пипетки серологические
- Штативытов
- Резервуары для реагентов
- Флаконы культуральные
- Криопробирки
- Лабораторная посуда из термостойкого стекла

Химические реактивы

- Acros Organics
- Fisher Chemicals
- Fisher BioReagents
- Sigma-Aldrich
- PanReac AppliChem
- BioFroxx

www.algimed.by | www.algimed.ru | www.algimed.kz

Альгимед

Клеточная биология

- Анализаторы жизнеспособности клеток
- Цитофлуориметры
- Сортеры клеток
- Биореакторы
- Клетки и клеточные линии
- Культуральные среды
- Культуральная посуда

Молекулярная биология

- Пробоподготовка
- ПЦР
- Электрофорез
- Блоттинг
- Сканеры биочипов
- Спектрофотометры
- Флуориметры
- Люминометры
- Секвенирование

** Альгимед предлагает реагенты для различных областей мол.-биологических исследований*

Фармацевтическая аналитика

- Хроматография
- Анализаторы частиц и дзета-потенциала
- Масс-спектрометрия
- Капиллярный электрофорез
- Системы фарманализа
- Дейтерированные стандарты / растворители
- EP / USP / BP стандарты
- HPLC / LC/MS растворители

Клиническая диагностика

- Проточная цитометрия
- Гематологические исследования
- ИФА-диагностика
- Контрольные материалы
- Микробиология

Иммунологические исследования

- Рекомбинантные белки
- Реагенты для исследования стволовых клеток
- Реагенты для иммунологических исследований
- Реагенты и системы визуализации для иммуногистохимии
- Наборы для определения апоптоза и жизнедеятельности клеток
- Наборы для мультиплексного анализа

Беларусь: +375 17 202 43 02 | Россия: +7 499 758 08 75 | Казахстан: + 7 747 026 59 69

Компания АЛЬГИМЕД

Комплексное оснащение лабораторий с 2004 года

Альгимед

12-летняя история работы позволила Компании Альгимед приобрести ценный опыт, высокую компетентность, дополнительные ресурсы, многочисленных уважаемых клиентов и квалифицированную команду специалистов, которые не менее двух раз в год проходят стажировки за границей.

Сервисная и пользовательская поддержка

- осуществление сервисной и пользовательской поддержки
- полное сопровождение и аппликационная поддержка предлагаемых наборов реагентов
- консультации по особенностям их применения (условия стабильности на борту анализаторов, сроки годности, клиническая интерпретация, причины получения некорректных результатов)

Специалисты компании окажут Вам необходимую помощь и консультацию!

В Беларуси: т./ф. +375 (17) 202 43 02, МТС + 375 (33) 665 73 25, Vel. +375 (44) 765 75 23

В России: т./ф. +7 (499) 758 08 75, + 7 (499) 737 89 43

В Казахстане: т. + 7 (747) 026 59 69, + 7 (701) 973 48 47

mail@algimed.by mail@algimed.ru info@algimed.kz

www.algimed.by www.algimed.ru www.algimed.kz

ISSN 1726-9784

РОССИЙСКИЙ БИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ И НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

№ 1. Том 15. 2016
УДК 616-085.2/3

Учредители
ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России
НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей

Главный редактор
З.С. Шпрах, канд. фарм. наук

Заместители главного редактора
А.В. Караулов, чл.-корр. РАН, д-р мед. наук, проф.; М.А. Барышникова, канд. фарм. наук

Редколлегия
И.А. Балдуева, д-р мед. наук (Санкт-Петербург),
О.А. Бочарова, д-р биол. наук, проф. (Москва), А.К. Голенков, д-р мед. наук, проф. (Москва),
М.И. Давыдов, д-р мед. наук, проф., академик РАН (Москва), Л.В. Демидов, д-р мед. наук, проф. (Москва),
М.В. Дмитриева, ответственный секретарь (Москва),
И.В. Евсегнеева, д-р мед. наук, проф. (Москва), П.К. Иванов, д-р мед. наук (Москва),
З.Г. Кадагидзе, д-р мед. наук, проф. (Москва), И.Ю. Кубасова, канд. мед. наук (Москва),
В.В. Новиков, д-р биол. наук, проф. (Нижний Новгород), Н.А. Оборотова, д-р фарм. наук, проф. (Москва),
В.В. Решетникова, канд. техн. наук (Москва), Н.С. Сергеева, д-р мед. наук, проф. (Москва),
Е.В. Степанова, д-р мед. наук (Москва), Н.Н. Тупицын, д-р мед. наук, проф. (Москва),
Е.Г. Турнянская, канд. мед. наук (Москва), Ю.В. Шишкин, д-р мед. наук, проф. (Москва),
И.Ж. Шубина, д-р биол. наук (Москва), Р.И. Якубовская, д-р мед. наук, проф. (Москва)

«Российский биотерапевтический журнал»
является рецензируемым изданием

Зарегистрировано в Федеральной службе по надзору
в сфере связи, информационных технологий
и массовых коммуникаций
Регистрационный номер:
№ 77-11695 от 21.01.2002 г., ПИ № ФС77-53039 от 04.03.2013 г.

Почтовый адрес:
115478 Москва, Каширское ш., 24
ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России
НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей
Тел.: +7(499) 324 10 65; факс: +7(499) 324 22 74
E-mail: biotherapy_rbj@mail.ru
Интернет-версия: ronc.ru›node/795

Подписной индекс 81679

Объем 16 усл.-печ. листов,
подписано в печать 04.03.2016
Тираж 1000 экз.

Издательский дом
«АБВ-пресс»
www.abvpress.ru

БАРЫШНИКОВ АНАТОЛИЙ ЮРЬЕВИЧ

21.09.1944 – 31.05.2015

Доктор медицинских наук, профессор

Директор Научно-исследовательского института экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России 1998–2015

Основатель конференции «Отечественные противоопухолевые препараты», создатель «Российского биотерапевтического журнала»

МАТЕРИАЛЫ XIII ВСЕРОССИЙСКОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ «ОТЕЧЕСТВЕННЫЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ПРЕПАРАТЫ» ПАМЯТИ А.Ю. БАРЫШНИКОВА

М.А. Абакумов

МАГНИТНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ, СТАБИЛИЗИРОВАННЫЕ СЫВОРОТОЧНЫМ АЛЬБУМИНОМ, В ДИАГНОСТИКЕ ОПУХОЛЕЙ

ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва;
НИТУ МИСиС, Москва

Введение. В настоящее время опухолевые заболевания занимают 2-е место по смертности после сердечно-сосудистых заболеваний. Это связано со многоими факторами, среди которых сложность диагностики опухолевого процесса на ранней стадии, а также локализация опухолевого очага. Одним из наиболее современных методов, позволяющих обнаружить развивающуюся злокачественную опухоль, является магнитно-резонансная томография (МРТ), расширить возможности которой возможно за счет применения контрастных агентов, способных накапливаться в опухоли.

Цель исследования – синтез и химический дизайн магнитных наночастиц оксида железа, покрытых альбумином, способных эффективно визуализировать опухоли методом МРТ.

Материалы и методы. В качестве способа синтеза нами был выбран метод термического разложения ацетилацетоната железа (III) в бензиловом спирте с дальнейшей стабилизацией суспензии сывороточным альбумином путем ковалентной сшивки глутаровым альдегидом. Полученные наночастицы были охарактеризованы методами ДЛС, трансмиссионной электронной микроскопии и ТГА. С помощью МТТ-теста была оценена токсичность полученных наночастиц. Эффективность данных наночастиц, в качестве контрастных агентов была показана при внутривенном введении суспензии животным с различными моделями опухолевых заболеваний, в частности глиомы С6 крысы, аденокарциномы Са755 мыши и опухоли печени РС-1 на МРТ ClinScan 7Т.

Результаты. В ходе работы мы установили, что полученные частицы имеют размер 40 ± 5 нм, дзета-потенциал 30 мВ, а их водная суспензия стабильна в течение нескольких недель. Полученные наночастицы проявляли свою токсичность только при концентрациях свыше 2,5 мг/мл. При визуализации моделей опухолей нами было показано накопление магнитных наночастиц в тканях и сосудах опухолей на протяжении 1–2 ч после введения, а органом, накапливающим частицы спустя 24 ч, стала печень.

Заключение. Исходя из полученных данных, можно утверждать, что синтезированные нами магнитные наночастицы являются биосовместимыми, обладают высокой стабильностью в водной среде и низкой токсичностью. Также, опираясь на эксперименты, проведенные на нескольких моделях, можно сделать вывод о перспективах использования данного контрастного агента при диагностике опухолевых заболеваний.

Е.В. Абакушина[1], И.А. Пасова[1], Ю.В. Маризина[1], Д.В. Кудрявцев[1], Г.Т. Кудрявцева[1], А.Д. Каприн[2]

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИММУНОТЕРАПИИ ЦИТОКИН-ИНДУЦИРОВАННЫМИ КИЛЛЕРАМИ БОЛЬНЫХ МЕЛАНОМОЙ

[1]МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ НМИРЦ Минздрава России, Обнинск;
[2]ФГБУ НМИРЦ Минздрава России, Обнинск

Введение. Совершенствование методов лечения онкологических заболеваний, увеличение их эффективности и безопасности является актуальной задачей. Помимо радикальных методов лечения, большое значение имеет адаптивная иммунотерапия. Цитокин-индуцированные киллеры показывают повышенную противоопухолевую активность, а их эффективность была доказана в последние годы.

Цель исследования – оценить эффективность сопроводительной иммунотерапии цитокин-индуцированными киллерами при комплексном лечении больных меланомой.

Материалы и методы. В исследовании принимали участие 27 пациентов с метастатической меланомой кожи IIa – IIIc стадии в возрасте от 26 до 82 лет (средний возраст 52 года), которым в качестве базисного проводились хирургическое лечение, лучевая и/или химиотерапия. Среднее время наблюдения составило 4–16 мес. Для получения цитокин-индуцированных киллеров выделенные из периферической крови мононуклеарные клетки культивировали на протяжении 14 дней в питательной среде с добавлением IL-2 и IL-15. Каждые 72 ч часть суспензионных цитокин-индуцированных киллеров (2–10 млн) собирали для иммунотерапии и вводили паравертебрально внутрикожно в 2–4 точки. Введение клеток проводили на 3, 5, 7, 9 и 11-е сутки, далее лечение продолжали по индивидуальной схеме без длительных перерывов в лечении.

Результаты. В работе оценен опыт применения адаптивной иммунотерапии цитокин-индуцированными киллерами у 27 пациентов, больных меланомой. Оценка эффективности сопроводительной иммунотерапии больных меланомой показала регрессию (PR) метастатических поражений у 2 (7,4 %), появление реактивных лимфатических узлов у 10 (37 %) и стабилизацию (SD) процесса у 18 (66,7 %) больных. Прогрессирование заболевания отмечено у 9 (33,3 %) пациентов, минимальные сроки до прогрессирования составили 6 мес при средней продолжительности жизни 10 мес, что выше среднестастических показателей. Анализ данных о применении цитокин-индуцированных

киллеров у больных обнаружил увеличение полугодовой и годичной выживаемости, а также безрецидивной выживаемости и среднего времени до прогрессирования по сравнению со статистическими показателями.

Заключение. Результаты работы доказывают отсутствие побочных эффектов и положительный эффект иммунотерапии. Метод сопроводительной иммунотерапии цитокин-индуцированными киллерами может способствовать снижению риска метастазирования и рецидива опухолевого роста. Показано, что наилучший результат достигается у пациентов с минимальной опухолевой массой, поэтому данный вид терапии должен применяться для лечения резидуальной болезни и профилактики рецидивов заболевания. Исследование показывает, что иммунотерапия цитокин-индуцированными киллерами является перспективным и эффективным методом лечения больных метастатической меланомой с плохим прогнозом.

К.Г. Абутнарица, О.В. Кеца, И.А. Шмараков

СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОХРОМА Р450 В МИКРОСОМНОЙ ФРАКЦИИ КАРЦИНОМЫ ГЕРЕНА КРЫС В УСЛОВИЯХ ВВЕДЕНИЯ ω3-ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

Черновицкий национальный университет им. Ю. Федьковича, Черновцы, Украина

Введение. Одним из возможных механизмов антиканцерогенного действия ω3-полиненасыщенных жирных кислот является их конверсия в эйкозаноиды, играющая важную роль в клеточном росте и дифференциации. Компоненты монооксигеназной системы катализируют превращение ω3-полиненасыщенных жирных кислот в гидрокси-, дигидрокси- и эпоксипроизводные, которые прямо или опосредственно могут влиять на размножение и рост опухолевых клеток.

Цель исследования – определить содержание цитохрома Р450 и скорость образования супероксидного радикала компонентами оксигеназной цепи монооксигеназной системы в микросомной фракции карциномы Герена крыс в условиях введения ω3-полиненасыщенных жирных кислот.

Материалы и методы. В работе использовались самки беспородных крыс. Животных разделили на 2 группы: 1-ю составили крысы с трансплантированной карциномой Герена, 2-ю – крысы-опухоленосители, которым до (за 4 нед) и после трансплантации карциномы Герена вводили ω3-полиненасыщенные жирные кислоты в дозе 120 мг/кг.

Результаты. Результаты проведенных исследований показали, что введение ω3-полиненасыщенных жирных кислот до и после трансплантации опухоли приводит к снижению содержания цитохрома Р450 в микросомной фракции карциномы Герена в латентной и логарифмической фазах онкогенеза по сравнению с показателями крыс-опухоленосителей. Следствием снижения содержания цитохрома Р450 является повышение скорости его инактивации и перехода в неактивную форму – цитохром Р420. Переход цитохрома Р450 в Р420 происходит в результате модификации SH-групп аминокислот, находящихся в активном центре. Неактивная форма Р420 неустойчива и в присутствии кислорода быстро теряет гем, поэтому образование Р420 является одним из этапов деградации цитохрома Р450 в клетках карциномы Герена в условиях действия ω3-полиненасыщенных жирных кислот. Снижение содержания цитохрома Р450 может привести к отклонениям в монооксигеназном цикле. При этом не весь кислород будет вводиться в молекулу субстрата, часть его будет выделяться из тройного комплекса субстрат-цитохром Р450-оксиген в виде супероксидного радикала. Нами установлено, что снижение содержания цитохрома Р450 происходит на фоне повышения генерации супероксидного радикала компонентами оксигеназной цепи монооксигеназной системы. Образованный супероксидный радикал инициирует процессы окислительной модификации белков и липидов мембран эндоплазматического ретикулума.

Заключение. Введение ω3-полиненасыщенных жирных кислот приводит к снижению содержания цитохрома Р450 в микросомной фракции карциномы Герена, что сопровождается увеличением скорости его перехода в неактивную форму – цитохром Р420 и генерацией супероксидного радикала. Одним из механизмов противоопухолевого действия ω3-полиненасыщенных жирных кислот может быть их влияние на компоненты монооксигеназной системы, нарушение функционирования которых будет снижать резистентность опухолевых клеток к действию лекарственных препаратов.

Н.П. Акентьева, И.В. Выстороп, Д.В. Мищенко

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ЦИКЛИЧЕСКИХ ГИДРОКСАМОВЫХ КИСЛОТ, ИНГИБИТОРОВ ГИСТОНДЕАЦЕТИЛАЗЫ

ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область

Введение. Фермент гистондеацетилаза является молекулярной мишенью последнего поколения противораковых препаратов, поскольку он играет важную роль в регуляции экспрессии генов, пролиферации раковых клеток, развитии опухолей. Ингибиторы гистондеацетилазы обладают высоким потенциалом в лечении онкологических заболеваний. Поэтому их разработка является весьма актуальной в настоящее время.

Цель исследования – синтезировать, идентифицировать молекулярную мишень и исследовать противоопухолевую активность 10 рацемических спироциклических гидроксамовых кислот (ЦГК) 1–10 (производные 1-гидрокси-1,4,8-триазаспиро[4.5]декан-2-она).

Материалы и методы. Для синтеза ЦГК использовали реакции циклоконденсации α-аминогидроксамовых кислот с замещенными γ-пиперидонами (триацетонамином и 1-метилпиперидоном-4). Ингибирование гистондеацетилазы под действием ЦГК оценивали методом флуоресцентного анализа. Анализ противоопухолевой активности ЦГК *in vivo* проводили методом комбинированной терапии с цисплатином и циклофосфаном на опухолях лейкемии Р388 и лейкемии L1210.

Результаты. Впервые синтезированы и исследованы 10 рацемических спироциклических гидроксамовых кислот ЦГК 1–10 (производные 1-гидрокси-1,4,8-триазаспиро [4.5] декан-2-она). Впервые идентифицирована молекулярная мишень ЦГК 1–10 *in vitro*. С помощью метода флуоресцентного анализа показано, что добавление ЦГК 1–10 к лизатам клеток рака молочной железы (MDA – MB-231) вызывает

ингибирование от 55 до 92 % активности гистондеацетилазы. Уровень ингибирования является высоким даже по сравнению с трихостатином, известным ингибитором гистондеацетилазы. Проведенные *in vivo* исследования ЦГК 1–10 в комбинированной терапии с цисплатином и циклофосфаном на опухолях лейкемии Р388 и лейкемии L1210 показали, что ЦГК обладают выраженной хемосенсибилизирующей противоопухолевой активностью, увеличивают продолжительность жизни животных в 1,5–2 раза. ЦГК 1–10 также проявляли антиметастатический эффект при полихимиотерапии меланомы В16.

Заключение. ЦГК являются потенциальными препаратами для лечения онкологических заболеваний.

А.И. Александрова, О.В. Кеца, И.А. Шмараков

ВЛИЯНИЕ ω3-ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА ПРОЦЕССЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ФРАКЦИИ ПЕЧЕНИ КРЫС С ТРАНСПЛАНТИРОВАННОЙ КАРЦИНОМОЙ ГЕРЕНА

Черновицкий национальный университет им. Ю. Федьковича, Черновцы, Украина

Введение. Развитие опухоли в организме сопровождается интенсификацией свободнорадикальных процессов в субклеточных органеллах отдаленных органов. Интенсификация перекисного окисления липидов мембран митохондрий может привести к набуханию последних и, как следствие, к потере органеллами их основной функции – способности синтезировать аденозинтрифосфат. Полиненасыщенные жирные кислоты могут проявлять протекторное действие на мембраны митохондрий, поскольку являются их основными структурными компонентами. С другой стороны, ω3-полиненасыщенные жирные кислоты служат источником для синтеза эйкозаноидов, влияющих на процессы клеточного деления и дифференциации, что делает их перспективными для использования в качестве профилактических средств в условиях онкогенеза.

Цель работы – изучение процессов перекисного окисления липидов в митохондриальной фракции печени крыс с трансплантированной карциномой Герена в условиях введения ω3-полиненасыщенных жирных кислот.

Материалы и методы. Исследования проводили на самках белых беспородных крыс. Источником ω3-полиненасыщенных жирных кислот служил рыбий жир, в состав которого входили 32 % эйкозапентаеновой кислоты и 24 % докозагексаеновой кислоты. Декапитацию животных проводили под легким эфирным наркозом на 7, 14 и 21-е сутки после трансплантации карциномы Герена, что для опухоленосителей соответствует латентной, логарифмической и стационарной стадиям онкогенеза.

Результаты. По мере роста в организме карциномы Герена в митохондриальной фракции печени крыс повышается уровень первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов с максимальными значениями в стационарную фазу онкогенеза, что приводит к набуханию митохондрий. Введение ω3-полиненасыщенных жирных кислот приводит к снижению уровня продуктов перекисного окисления липидов в митохондриальной фракции печени крыс в логарифмическую фазу онкогенеза, что, возможно, связано с модификацией состава жирных кислот фосфолипидов митохондриальных мембран, в то же время снижается интенсивность набухания митохондрий.

Заключение. Введение ω3-полиненасыщенных жирных кислот до и после трансплантации карциномы Герена приводит к снижению интенсивности процессов перекисного окисления липидов в митохондриальной фракции печени крыс, что выражается в снижении уровня первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов в период интенсивного роста опухоли в организме. Таким образом, применение ω3-полиненасыщенных жирных кислот в комбинации с противоопухолевыми препаратами может повысить противоопухолевый эффект последних и способствовать защите от процессов перекисного окисления липидов в мембранах митохондрий.

Е.Н. Александрова, Д.А. Церковский, Ю.П. Истомин

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ С ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОМ ФОТОЛОН В КОМБИНАЦИИ С ЦИСПЛАТИНОМ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VITRO*

ГУ «РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова», агрогородок Лесной, Республика Беларусь

Введение. Одним из путей повышения эффективности фотодинамической терапии является ее комбинирование с методами, в основе которых лежат принципиально иные механизмы повреждения опухолевой клетки (химиотерапия).

Цель исследования – изучение противоопухолевой эффективности фотодинамической терапии с фотосенсибилизатором фотолон в комбинации с цисплатином (ЦП) в эксперименте на культуре клеток HeLa.

Материалы и методы. Монослойную культуру опухолевых клеток HeLa в логарифмической стадии роста инкубировали в течение 24 ч в питательной среде DMEM (РНПЦ ЭМ) с добавлением 10 % эмбриональной телячьей сыворотки и 50 мкг/мл гентамицина. После добавления ЦП (Цитоплатин-ЛЭНС, АО «ВЕРОФАРМ») в дозах 0,05; 0,1 и 0,2 мкг/мл флаконы с культурой клеток инкубировали в течение 24 ч в термостате при температуре 37 °С. Затем на 3 ч добавляли раствор фотосенсибилизатора фотолон (РУП «Белмедпрепараты», 1 мкг/мл). Фотооблучение осуществляли полупроводниковым лазером «УПЛ ФДТ» (LEMT, РБ, $\lambda = 661$ нм) в экспозиционной дозе 0,25 Дж/см^2. Спустя 21 ч монослой клеток диспергировали 0,02 % раствором Версена и проводили подсчет живых клеток в камере Горяева. С помощью регрессионного анализа данных определяли показатель торможения роста $ЭК_{50}$ – концентрацию ЦП, вызывающую торможение роста культуры опухолевых клеток на 50 % по сравнению с контролем. Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ Origin Pro 7.0 и STATISTICA 8.0. Критический уровень значимости (p) принимался равным 0,05.

Результаты. Инкубация клеток с ЦП без фотолона и фотооблучения в течение 48 ч приводила к дозозависимому угнетению пролиферации: выживаемость клеток для ЦП в дозах 0,05, 0,1 и 0,2 мкг/мл составила 65, 54 и 48 %

соответственно по отношению к контролю. Данный показатель для группы фотооблучения с фотолоном составил 55 % по отношению к контролю. Показатель цитостатического эффекта $ЭК_{50}$ составил 0,17 ± 0,03 мкг/мл для ЦП, 0,05 ± 0,01 мкг/мл – для ЦП с фотооблучением. Отмечено сокращение количества опухолевых клеток HeLa с 59,33 ± 4,86 × 10^4 (ЦП 0,05 мкг/мл) до 44,0 ± 2,39 × 10^4 для ЦП 0,05 мкг/мл с фотооблучением (p = 0,022); с 46,0 ± 2,26 × 10^4 (ЦП 0,1 мкг/мл) до 38,5 ± 2,26 × 10^4 для ЦП 0,1 мкг/мл с фотооблучением (p = 0,044); с 43,88 ± 4,13 × 10^4 (ЦП 0,2 мкг/мл) до 33,25 ± 2,14 × 10^4 для ЦП 0,2 мкг/мл с фотооблучением (p = 0,048).

Заключение. Полученные результаты в эксперименте на культуре клеток карциномы шейки матки человека HeLa свидетельствуют о синергетическом действии комбинации фотодинамической терапии с фотолоном и ЦП.

Ю.В. Алексеев[1], Е.В. Давыдов[2], Г.В. Пономарев[3], В.Ю. Шленский[2], А.В. Иванов[4]

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОДУКТОВ ФОТОЛИЗА 2,4-ДИ(1-МЕТОКСИЭТИЛ) – ДЕЙТЕРОПОРФИРИНА-IX (ДИМЕГИНА) В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

[1]ФГБУ ГНЦ ЛМ ФМБА России, Москва;
[2]Ветеринарная клиника «Велес-Текстильщики», Москва;
[3]ФГБНУ «НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича», Москва;
[4]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Известно, что продукты фотолиза фотосенсибилизаторов порфиринового ряда, в том числе их долгоживущие перекиси, обладают биологической активностью, сохраняя при этом тропность, присущую порфиринам к пролиферирующим клеткам и микроорганизмам. Применение растворов облученных порфиринов может найти широкое применение в различных областях медицины.

Цель исследования – изучить воздействие продуктов фотолиза димегина на ряд микроорганизмов *in vitro*.

Материалы и методы. В работе были использованы: лазерный аппарат «АСТ» (ООО «Панков-медикал») мощностью 0,8 Вт, λ ≈ 405 нм; музейные штаммы *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*; питательная среда для выращивания хемоорганотрофных бактерий мясопептонный агар; растворы димегина с различной концентрацией. К 0,5 мл бактериальных культур добавляли 0,5 мл облученного раствора димегина с последующим посевом на специальные среды. Облучение проводилось в стеклянной кювете 1,0 мл диаметром 1 $см^2$ с расстояния 5 см в течение 5 мин (240 $Дж/см^2$). Контролем являлось добавление к бактериальным культурам соответствующих концентраций необлученного димегина.

Результаты. В опытной группе наблюдалось подавление роста всех бактерий при концентрации димегина 0,0001 и 0,00001 мг в 0,5 мл, более выраженное для *S. aureus* и *S. enteritidis*. В контрольной группе подавления роста не наблюдалось.

Заключение. Результаты исследований подтверждают возможность использования продуктов фотолиза порфиринов в практических целях и, вероятно, при терапии онкологических заболеваний. Перспективным является изучение условий получения наиболее активных химических соединений этого ряда, в том числе подбор порфиринов с наибольшим выходом долгоживущих перекисей, параметров и длин волн излучения в спектре их поглощения, определения времени их существования в различных средах и биологических объектах, а также накопления в патологически измененных тканях.

Н.Н. Андронова[1], С.А. Цурка[2], Ж.Р. Черкасова[2], Г.Б. Смирнова[1], Ю.А. Борисова[1], Е.М. Трещалина[1]

БИОДОСТУПНОСТЬ ПЕРОРАЛЬНОГО α-ФЕТОПРОТЕИНСОДЕРЖАЩЕГО НЕКОВАЛЕНТНОГО КОМПЛЕКСА АИМПИЛА НА МОДЕЛИ «ВЫВЕРНУТЫХ МЕШОЧКОВ» ИЗОЛИРОВАННОГО ОТРЕЗКА ТОНКОЙ КИШКИ КРЫС

[1]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;
[2]ООО «ФармАксесс», Москва

Введение. Для пероральных белковых нековалентных комплексов, в том числе комплекса α-фетопротеина и известного индуктора апоптоза (Аимпила), всасывание происходит, как правило, в нижних отделах тонкой кишки, а попадание во внутреннюю среду организма – различными вариантами пиноцитоза. Прохождение агента через стенку кишки (интернализация) контролируют с помощью люминисцентной метки в транспортной части комплекса. Доказательство интернализации комплекса Аимпила при пероральном введении является необходимым этапом для проведения доклинического изучения на животных.

Цель исследования – оценка биодоступности перорального комплекса Аимпила на модели перфузии изолированного отрезка тонкой кишки крыс.

Задачи исследования. 1. Модификация методики получения изолированного отрезка тонкой кишки крысы для Аимпила. 2. Изучение всасывания комплекса Аимпила в тонкой кишке крыс по динамике концентрации акридиновой метки.

Материалы и методы. Исследование выполнено на крысах-самках с массой тела 150–200 г. Метод «вывернутых мешочков» изолированных отрезков тонкой кишки модифицирован заменой перевязки отрезка кишки фиксацией их клипсами с двух сторон без перфузии. Использованы комплекс Аимпила в пероральной лекарственной форме (ООО «ФармАксесс», РФ) и акридин NHS-эфир (Toronto Pharmaceuticals, Канада) для люминисцентного окрашивания препаратов. Комплекс Аимпила – акридин в концентрации 1,0 мкг/мл добавляли в инкубационную среду (раствор Рингера–Локка, t = 37 °C). Прохождение меченого соединения через стенку кишки фиксировали через 30 мин после введения в инкубационную среду (время жизнеспособности отрезка) и трехкратной отмывки отрезков под контролем люминесцентной метки. Интенсивность люминесценции измеряли в относительных световых единицах (RLU, relative light units), 1 RLU = 1,0 фемтомоль (10^{-15} моль) аденозинтрифосфата.

Результаты. Показано, что исходное значение люминесценции комплекса Аимпила – акридин в инкубационной среде составляло 1073714 RLU. Уровень люминесценции меченого препарата в просвете отмытых «вывернутых

мешочков», определенных в 4 изолированных отрезках тонкой кишки, составлял 425–829 RLU, максимальный уровень 0,08 % от исходного значения. Неспецифическая люминесценция среды и следовая люминесценция отрезков кишки после трехкратной отмывки, величины которых были предельно малы и колебались от 30 RLU и 50 RLU соответственно, не учитывались.

Заключение. Полученные данные позволяют считать, что меченый акридином пероральный комплекс Аимпила после однократного введения в инкубационную среду интернализуется через стенку тонкой кишки крысы в количестве до 0,08 % от введенной концентрации. Незначительная концентрации препарата, поступающая в организм при однократном введении, позволяет считать оправданным эмпирически найденный на животных многократный терапевтический режим применения комплекса Аимпила.

Д.А. Афанасьева, М.А. Барышникова, О.С. Бурова, А.П. Полозкова, Т.Н. Заботина, А.Ю. Барышников

АКТИВАЦИЯ ИНИЦИАТОРНЫХ КАСПАЗ-8 И -9 ПОД ВЛИЯНИЕМ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ АРАНОЗЫ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Ранее нами было показано, что некоторые клеточные линии меланомы человека устойчивы к аранозе в традиционной лекарственной форме, но чувствительны к липосомальной. Подобное поведение клеток может объясняться существованием различных путей индукции клеточной гибели.

Цель исследования – определение пути индукции апоптотической гибели клеток после воздействия двух лекарственных форм аранозы – лиофилизата для приготовления раствора для инъекций и липосомальной – по активации каспаз-8 и -9 в клеточных линиях меланомы человека.

Материалы и методы. Исследования проводили на двух $CD95^+$-клеточных линиях меланомы человека: mel Kor, mel Ibr и на трех линиях, на которых отсутствовала экспрессия мРНК рецепторов внешнего пути апоптоза: mel Z, mel Mtp и mel Mtp clone X. Клеточные линии сажали на 6-луночные планшеты, через сутки в лунки добавляли лекарственные формы аранозы – лиофилизат для приготовления раствора для инъекций (араноза-лио) и липосомальную в концентрации 1 $ИК_{50}$. Контролем служили клетки, которые инкубировали в тех же условиях, но без препарата. Через 8, 24 и 48 ч проводили определение активных каспаз с помощью Caspase 8 и Caspase 9 (active) FITC Staining Kit (Abcam) на проточном цитофлуориметре.

Результаты. Под действием аранозы-лио с увеличением времени инкубации уровень каспазы-8 и -9 постепенно повышался до 15 % на клеточных линиях mel Z, mel Mtp и mel Mtp clone X. Для линии mel Kor уровень каспазы-8 составил 19,5 (8 ч), 63,7 (24 ч), 64,2 % (48 ч), каспазы-9 – 9,4 (8 ч), 93,6 (24 ч), 98,5 % (48 ч). Для линии mel Ibr уровень каспазы-8 составил 8,5 (8 ч), 35,3 (24 ч), 72,3 % (48 ч), а уровень каспазы-9 составил 7,7 (8 ч), 25,4 (24 ч), 59,5 % (48 ч). Под действием липосомальной аранозы с увеличением времени инкубации уровень каспазы-8 и -9 постепенно повышался до 15 % на клеточных линиях mel Z и mel Mtp, а на mel Mtp clone X – до 21 и 25 соответственно. Для линии mel Kor уровень каспазы-8 составил 45,2 (8 ч), 73,2 (24 ч), 84,9 % (48 ч), каспазы-9 – 37,9 (8 ч), 93,7 (24 ч), 98,5 % (48 ч). Для линии mel Ibr уровень каспазы-8 составил 9,8 (8 ч), 25,6 (24 ч), 64,5 % (48 ч), каспазы-9 – 6,4 (8 ч), 23,4 (24 ч), 65,3 % (48 ч).

Заключение. Инкубация клеток с обеими лекарственными формами аранозы сопровождалась повышением уровней обеих каспаз, что указывает на активирование и внешнего, и митохондриального путей апоптоза. На клеточных линиях mel Z, mel Mtp и mel Mtp clone X, на которых отсутствовали рецепторы внешнего пути индукции апоптоза, обе лекарственные формы аранозы повышали активность инициаторных каспаз в меньшей степени, чем на $CD95^+$-линиях клеток mel Ibr и mel Kor. Таким образом, индукция апоптоза аранозой более выражена при наличии рецепторов внешнего пути апоптоза.

Б.Б. Ахмедов, А.К. Аллахвердиев, М.М. Давыдов, Б.Е. Полоцкий

ОПЫТ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ЛЕГОЧНЫХ МЕТАСТАЗОВ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. При колоректальном раке (КРР) метастазы выявляются у 20–25 % больных при установлении диагноза, еще у 20–25 % после удаления первичной опухоли. Для большинства пациентов, имеющих метастазы в легких, хирургическое их удаление может быть единственной реальной надеждой на значительное увеличение продолжительности жизни, а иногда и выздоровление.

Цель исследования – определить роль хирургического метода в комплексном лечении больных с метастатическими опухолями легких.

Материалы и методы. В торакальном отделении с 2000 по 2014 г. выполнено 146 оперативных вмешательств по поводу метастазов КРР.

Результаты. Торакотомным доступом оперированы 120 (82 %) пациентов, видеоторакоскопически – 26 (18 %). Наиболее часто выполнялись атипичные резекции – у 78 (53 %), лобэктомии – у 59 (40 %), пневмонэктомий выполнено 6 (4 %), сегментэктомий – 3 (2 %). После открытых оперативных вмешательств осложнения составили 6,8 % (при летальности 1,3 %), после торакоскопических вмешательств – 2,3 %. Общая 1-, 3- и 5-летняя выживаемость 146 больных составила 96,7; 73,3 и 61,2 %. При сравнении результатов хирургического лечения больных КРР с метастазами в легкие анализ показал статистически достоверное преимущество выживаемости у пациентов с длительностью безрецидивного периода < 24 мес и радикальным удалением всех определяемых метастатических узлов. Пол, возраст, объем хирургического лечения (атипичная или типичная операция), характер поражения (солитарный, единичный) и размер метастазов достоверно не влияли на прогноз. Радикальность хирургического вмешательства, длительность безрецидивного периода < 24 мес и нормальный уровень раково-эмбрионального антигена в крови достоверно коррелировали с более благоприятным прогнозом. Следует отметить, что первичные и повторные торакальные вмешательства по поводу метастазов КРР в легкие характеризуются низ-

кими операционно-анестезиологическим риском и послеоперационной летальностью. Наличие экстрапульмональных метастазов, если имеется полная уверенность в возможности их радикального удаления, не является противопоказанием к операции.

Заключение. С учетом устойчивости метастазов КРР ко всем видам консервативной терапии хирургическое лечение, включая и повторные операции, на сегодняшний день является полностью оправданным и единственно реальным эффективным методом лечения.

С. Б. Ахметова

ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ СЕСКВИТЕРПЕНОВЫХ ЛАКТОНОВ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ НА КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК *PARAMECIUM CAUDATUM*

КГМУ, Караганда, Республика Казахстан

Введение. В настоящее время такие биологические модели, как инфузории, широко используются в экспериментальной фармакологии в токсикологических исследованиях. Скорее это связано с тем, что парамеции обладают высокой чувствительностью к изменениям внешней среды, как индикаторы дополнительного биоскрининга. Известно, что многие биологически активные вещества способны вызывать развитие реакции в живых клетках, однако исследования диэтилфосфита арглабина, диэтиламиноарглабина, диметиламиноарглабина, бромпроизводного арглабина, бромкарбен-производного арглабина на подобного рода биологических моделях не проводили.

Цель исследования – оценка фармакологических эффектов сесквитерпеновых лактонов и их производных при совместной инкубации с клетками инфузорий *Paramecium caudatum* на их жизнеспособность.

Материалы и методы. Для скрининга на одноклеточной модели использовали диэтилфосфит арглабина, диэтиламиноарглабин, диметиламиноарглабин, бромпроизводное арглабина, бромкарбен-производное арглабина. Культуру клеток *Paramecium caudatum* (дикий штамм) выращивали на среде с добавлением дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в качестве источника питания. Клетки, взятые в стационарной фазе роста, инкубировали 30 мин с исследуемым веществом в концентрации 10 мкл. Для оценки эффектов действия исследуемых веществ использовали выживаемость клеток, линейную скорость их движения. Концентрацию живых клеток парамеций определяли подсчетом клеток с использованием камеры Горяева, микроскопа и фотонасадки на микроскоп на USB-камеру 14 Мпикс, которая позволяет подсчитывать число инфузорий, попадающих в поле зрения микроскопа, а также линейную скорость их движения. При оценке выживаемости за единицу принимали число клеток в интактной культуре (без индукции арглабина и его производных).

Результаты. При выращивании инфузорий в интактных условиях инкубации с арглабином и его производными препараты в исследуемой концентрации не проявили токсического действия, не влияли на рост и жизнеспособность инфузорий, а также не изменяли скорость их движения, кроме образца бромкарбен-производного арглабина. Инфузории, подвергнутые инкубации с бромкарбен-производным арглабина, обладали существенно более высокой чувствительностью к действию вещества, изменяли траектории движения по сравнению с интактными парамециями. В то же время бромкарбен-производное арглабина снижало выживаемость инфузорий. Степень выживаемости парамеций при действии бромкарбен-производного арглабина была в 2 раза ниже, чем в контроле.

Заключение. Экспериментальные исследования показали, что инфузории *Paramecium caudatum* достаточно чувствительны для проведения данного теста, что выражается в гибели части клеток уже после 30-минутной инкубации с бромкарбен-производным арглабина.

Е. М. Бакурова, Б. Г. Борзенко, И. В. Василенко, Р. Б. Кондратюк, Б. П. Кондратюк

ТИМИДИНФОСФОРИЛАЗА И ИНДИВИДУАЛИЗАЦИЯ ТЕРАПИИ ФТОРПИРИМИДИНАМИ

ДонНМУ им. М. Горького, ДОПЦ, Донецк, Украина

Введение. Препараты группы 5-фторурацила (5-ФУ) широко используются при лечении больных первично и вторично диссеминированными формами аденокарцином (АК) различной локализации. Как препараты 1-й линии терапии распространенного рака желудка, кишечника, молочной железы, они могут быть применены и в составе схем, и в виде монотерапии. Выбор препарата и режима его дозирования для пациентов с неблагоприятным прогнозом, имеющих метастатическое поражение печени и/или легких, крайне важен, во многом предопределяет результат лечения и качество жизни больного. Тимидинфосфорилаза (ТФ, EC 2.4.2.4, также известная как PD-ECGF (platelet-derived endothelial cell growth factor)) – ангиогенный фермент, реализующий опухолевый катаболизм фторафура, 5-дезокси-5-фторуридина (метаболит капецитабина), фуртулона в 5-ФУ. Цитотоксическое действие самого 5-ФУ возможно через его трансформацию в 5-фтордезоксиуридинмонофосфат (ингибитор тимидилатсинтазы) при сочетанной трансферазной активности ТФ и тимидинкиназы. Также известно, что индивидуальная эффективность препаратов зависит от ТФ.

Цель исследования – одновременно изучить фосфорилазную и трансферазную активности фермента в АК.

Материалы и методы. Выполнено спектрофотометрическое исследование видов активности ТФ в тканях опухолей (48 АК желудка, кишечника, 40 АК легких) и в контроле (край резекции). Иммуногистохимически определялись специфический маркер эндотелия сосудов (CD34), а также маркер пролиферации Ki-67.

Результаты. Во всех опухолях преобладал лишь один из видов активности ТФ. Например, если ее трансферазная (анаболическая) активность в опухолях превышала контроль (187,48 ± 22,03 и 106,71 ± 15,21 нмоль/мин·мг; $p < 0,05$), фосфорилазная (катаболическая) активность была низкой. Соответственно, катаболическая активность ТФ в АК желудка составила 21,92 ± 4,60 нмоль/мин·мг (контроль – 57,82 ± 7,99 нмоль/мин·мг; $p < 0,01$), в АК колоректальном раке – 25,50 ± 5,48 нмоль/мин·мг (контроль – 47,22 ± 6,76 нмоль/мин·мг; $p < 0,01$), при раке легкого – 33,84 ± 13,87 нмоль/мин·мг (контроль – 62,04 ± 6,40 нмоль/мин·мг; $p < 0,01$). Это ведет к повышению уровней тимидина – суб-

страта для тимидинкиназы – маркера пролиферации. Действительно, установлена прямая связь анаболической активности ТФ с уровнями экспрессии Ki-67 в АК (показатель корреляции Спирмена $\rho = 0{,}415$; $p < 0{,}05$). В ряде опухолей (преимущественно при раке легкого), где, наоборот, преобладала катаболическая активность ТФ, создавались индивидуальные условия для накопления продуктов реакции – тимина и 2-дезокси-D-рибозы (стимуляторов ангиогенеза). Между индивидуальными значениями катаболической активности ТФ в этой выборке и уровнями экспрессии CD34 установлена прямая корреляционная связь ($\rho = 0{,}668$; $p < 0{,}05$).

Заключение. Одновременное исследование видов активности ТФ индивидуально в АК различной локализации может служить биохимическим критерием выбора фторпиримидина. Так, АК с высокой анаболической активностью ТФ способны активно метаболизировать 5-ФУ. В то же время преобладание фосфорилазной активности обеспечит трансформацию, эффекты предшественников, например капецитабина. Также может быть показана и антиангиогенная терапия, так как катаболическая активность ТФ коррелирует с активацией ангиогенеза.

А.А. Балакина, В.А. Мумятова, В.Д. Сень, А.А. Терентьев

ВЛИЯНИЕ АМИНОНИТРОКСИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ПЛАТИНЫ (IV) НА ОКСИДАТИВНЫЙ СТАТУС КЛЕТОК ЛИНИИ MCF-7 ПРИ ИНГИБИРОВАНИИ ФУНКЦИЙ БЕЛКА P53

ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область

Введение. В настоящее время побочные эффекты и высокую токсичность противоопухолевых препаратов платиновой группы связывают с нарушениями про- и антиоксидантного баланса и накоплением активных форм кислорода (АФК). Нитроксильные радикалы являются антиоксидантами и проявляют разнообразную биологическую активность: способны реагировать с активными радикалами, выступать в качестве катализаторов редокс-реакций и миметиков ферментативных систем. В связи с этим актуальным является изучение роли нитроксильных радикалов в составе платина (IV) – нитроксильных комплексов в механизмах противоопухолевого действия.

Цель исследования – изучение активности антиоксидантной системы в ответ на действие аминонитроксильных комплексов платины различной структуры в условиях подавления функций супрессора опухолей p53.

Материалы и методы. Методология работы включает использование культуры клеток аденокарциномы молочной железы человека MCF-7. Клетки обрабатывали исследуемыми комплексами в присутствии пифитрина-α – ингибитора p53, а затем исследовали экспрессию генов *SOD2*, *GPX1*, *P21* и определяли содержание маркеров окислительного стресса. Экспрессию генов изучали методом полимеразной цепной реакции в реальном времени, восстановленный глутатион определяли по реакции с 5,5'-дитиобис(2-нитробензойной кислотой), малоновый диальдегид (МДА) – по реакции с тиобарбитуровой кислотой.

Результаты. Показано, что все изученные комплексы вызывали накопление МДА в опухолевых клетках после 12 ч действия. Обнаруженное увеличение показателя в 3–4 раза по сравнению с контролем говорит об индукции образования АФК и развитии окислительного стресса. Выявлено, что комплексы платины (IV) не оказывают существенного влияния на содержание восстановленного глутатиона в опухолевых клетках. Однако ингибирование белка p53 вызывало значительное снижение концентрации глутатиона как в контроле, так и в экспериментальных образцах. Обнаружено, что изученные комплексы индуцировали существенное увеличение экспрессии генов *GPX1*, *SOD2* и *P21*. Подавление функций p53 приводило к значительному снижению экспрессии изученных генов.

Заключение. Выявленная взаимосвязь между подавлением функций p53 и изменениями в функционировании антиоксидантной системы говорит о важной роли белка p53 в механизмах клеточного ответа на уровне окислительно-восстановительного баланса при действии аминонитроксильных комплексов платины.

Н.П. Бгатова, И.С. Куликова, Ю.С. Гаврилова, Ю.И. Бородин, В.И. Коненков

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ МАРКЕРОВ ПРОЛИФЕРАЦИИ, АНГИО- И ЛИМФАНГИОГЕНЕЗА ПРИ ГИПЕРКЕРАТОЗЕ И ПЛОСКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ НИЖНЕЙ ГУБЫ

НИИКЭЛ, Новосибирск

Введение. В последнее время возросла заболеваемость плоскоклеточным раком нижней губы (РНГ). По данным статистики, рак губы диагностируется чаще всего на III–IV стадиях. Неблагоприятный прогноз плоскоклеточного РНГ связан с метастазированием в регионарные лимфатические узлы. Для данной онкопатологии актуальной является ранняя диагностика злокачественного роста, которая позволит избежать травмирующих оперативных вмешательств и возможного метастазирования.

Цель исследования – выявление лимфангиогенеза, ангиогенеза и пролиферативной активности клеток при гиперкератозе, плоскоклеточном ороговевающем и неороговевающем РНГ.

Материалы и методы. В исследование были включены 3 группы больных: 1-я группа была представлена 22 пациентами с гиперкератозом нижней губы; 2-я состояла из 15 больных с плоскоклеточным неороговевающим РНГ I стадии (T1N0M0); 3-я группа была образована 34 лицами с плоскоклеточным ороговевающим РНГ I стадии (T1N0M0). Биоптаты нижней губы из очага поражения обрабатывали по стандартной методике для получения парафиновых срезов для иммуногистохимического окрашивания. Для выявления маркеров пролиферации, кровеносных и лимфатических сосудов использовали моноклональные антитела к Ki-67 (Novocastra), CD34, Podoplanin (Monosan), LYVE-1 (Abcam). Оценивали объемную плотность кровеносных и лимфатических сосудов, численную плотность пролиферирующих клеток.

Результаты. Наименьшие значения объемной плотности $CD34^+$-кровеносных, LYVE-1^+- и Podoplanin$^+$-лимфатических сосудов и численной плотности пролиферирующих клеток (Ki-67^+-клеток) были выявлены при гиперкератозе (предраке) нижней губы. Было показано, что при неороговевающей форме плоскоклеточного РНГ в опухолевом узле на 88 % больше объемная плотность $CD34^+$-кровенос-

ных сосудов по сравнению с ороговевающей формой рака. При обеих формах плоскоклеточного РНГ обнаружена большая выявляемость Podoplanin$^+$-лимфатических сосудов по сравнению с LYVE-1$^+$-сосудами. При плоскоклеточном неороговевающем РНГ отмечены бóльшие значения объемных плотностей Podoplanin$^+$-лимфатических сосудов по сравнению с ороговевающей формой рака. В то же время численная плотность Ki-67$^+$-клеток была больше при ороговевающей форме плоскоклеточного РНГ.

Заключение. При плоскоклеточном неороговевающем РНГ отмечены бóльшие значения объемных плотностей CD34$^+$-кровеносных и Podoplanin$^+$-лимфатических сосудов по сравнению с гиперкератозом и ороговевающей формой рака губы, что может быть структурной основой для более выраженной прогрессии опухолевого роста и метастазирования.

А.Ю. Белик, А.Ю. Рыбкин, Н.С. Горячев, И.И. Пархоменко, А.А. Терентьев, Е.А. Хакина, О.А. Краевая, П.А. Трошин, А.И. Котельников

ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ КОВАЛЕНТНЫХ КОНЪЮГАТОВ ФУЛЛЕРЕН – ФЛУОРЕСЦЕИН И ФУЛЛЕРЕН – ЭОЗИН В МОДЕЛЬНОЙ СРЕДЕ И НА КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК HELA

ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область

Введение. Производные фуллерена представляют интерес для применения с точки зрения создания новых препаратов для фотодинамической терапии, так как способны с высоким квантовым выходом (~1) переходить в триплетное состояние и эффективно генерировать синглетный кислород $^1O_2$. Однако эффективность фотодинамического действия фуллеренов ограничивается их слабым поглощением в красной области спектра, наиболее удобной для фотодинамической терапии. Одним из путей решения данной проблемы является создание гибридных диад путем присоединения к фуллерену красителя, эффективно поглощающего в видимой области спектра.

Цель исследования – определение фотодинамической активности водорастворимых поликатионной и полианионной диад фуллерен – флуоресцеин, а также полианионной диады фуллерен – эозин.

Материалы и методы. Водорастворимые диады и исходные полизамещенные производные фуллерена (ППФ) синтезированы в ИПХФ РАН, структура соединений доказана методами инфракрасной и ультрафиолетовой спектроскопии, спектроскопии ядерного магнитного резонанса на ядрах ^1H и ^{13}C и электроспрей-масс-спектрометрии. Фотодинамическая активность соединений оценивалась на культуре клеток HeLa по методу МТТ, а также в модельной системе с помощью красителя НСТ. Разработаны методы определения концентрации ППФ и диад в исследуемых системах методом люминесценции и методом спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния.

Результаты. Было показано существенное усиление фотодинамической активности диад по сравнению с исходными соединениями как в модельной среде (в 3 раза для диады фуллерен – эозин и в 9 раз для диады фуллерен – флуоресцеин), так и на культуре клеток HeLa (в 3 раза). Также было отмечено отсутствие темновой токсичности на культуре клеток HeLa как для исходных ППФ, так и для диад в действующих концентрациях вплоть до $2 \cdot 10^{-4}$ М.

Заключение. Наблюдаемые эффекты увеличения фотодинамической активности диад фуллерен – краситель показывают перспективность подобных ковалентных конъюгатов как новых эффективных фотосенсибилизаторов для применения в фотодинамической терапии.

Исследования поддержаны Программой Президиума РАН № 1 «Наноструктуры: физика, химия, биология, основы технологий» и грантом РФФИ № 16-34-01156 мол_а.

А.А. Белоглазкина, А.А. Барашкин, А.Г. Мажуга, Е.К. Белоглазкина, Н.В. Зык

ИМИДАЗОЛ-4-ОНЫ И ИХ ДИСПИРОПРОИЗВОДНЫЕ – НОВЫЙ КЛАСС ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

Химический факультет ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва

Введение. Онкологические заболевания уносят огромное число человеческих жизней и занимают 2-е место по смертности после сердечно-сосудистой патологии. Ежегодно в мире умирают от онкологических заболеваний более 70 млн человек. Лечение и диагностика этих заболеваний являются одними из наиболее важных направлений современной медицины. Последние 15 лет наблюдается повышенный интерес к поиску непептидных низкомолекулярных соединений, способных препятствовать взаимодействию клеточных белков p53 – MDM2. Белок p53 – опухолевый супрессор, играющий важную роль в жизненном цикле клетки и апоптозе, а MDM2 является его эндогенным ингибитором. Если блокировать взаимодействие этих белков, то высвобождающийся p53 активирует процесс разрушения опухоли, что является новым направлением в терапии онкологических заболеваний.

Цель исследования – разработка перспективного класса ингибиторов белков p53 – MDM2 в качестве новых непептидных низкомолекулярных противоопухолевых препаратов.

Материалы и методы. Для синтеза целевых диспиросоединений использованы доступные саркозин и изатин, а кроме того, производные N, O-содержащих гетероциклических соединений, также легко синтезируемые с высоким выходом в 1–2 синтетические стадии, исходя из коммерчески доступных препаратов. Структуры полученных соединений однозначно установлены с помощью комплекса физико-химических методов (ядерный магнитный резонанс, инфракрасная масс-спектроскопия, элементный анализ, в случае необходимости – рентгеноспектральный анализ). Биологическая активность синтезируемых соединений определена в стандартном МТТ-тесте на цитотоксичность на клеточных линиях LNCap, PC3, НСТ p53$^{(+/+)}$ и НСТ p53$^{(-/-)}$.

Результаты. Разработаны синтетические подходы к созданию диспиропроизводных на основе различных гетероциклических производных, а именно: 2-тиогидантоинов, их S-алкилированных производных, гидантоинов и оксазолонов. Получена библиотека соединений с различными

заместителями, которая была исследована на цитотоксичность на клеточных линиях LNCap, PC3, HCT $p53^{(+/+)}$ и HCT $p53^{(-/-)}$, а также на клеточной линии нормальных фибробластов легкого эмбриона человека. Для одного из соединений-лидеров было произведено разделение на хиральной колонке с выделением двух энантиомеров, один из которых показал высокую цитотоксичность. Для данных соединений также были исследованы механизмы гибели клетки и проникновения веществ в клетку.

Заключение. В рамках данной работы получена библиотека диспиропроизводных на основе гетероциклических соединений различных классов, проведено ее биотестирование. На основании связи «структуры – активность» выявлено соединение-лидер.

Работа выполена при поддержке РФФИ, грант № 16-33-60166.

Ю.А. Белый, А.В. Терещенко

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА СКЛЕРАЛЬНОГО ЛОЖА ПОСЛЕ ЭНДОРЕЗЕКЦИИ ВНУТРИГЛАЗНОГО НОВООБРАЗОВАНИЯ

Калужский филиал ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России

Введение. Эндорезекция внутриглазного новообразования до недавнего времени как метод лечения оспаривалась из-за возможности обсеменения опухолевыми клетками, а также вероятности системной диссеминации. Сегодня она начинает использоваться все чаще и чаще в комбинации с брахитерапией, термотерапией, фотодинамической терапией. Однако полностью риск обсеменения и диссеминации исключить невозможно. Поэтому актуальным является поиск методов обработки склерального ложа после эндорезекции внутриглазного новообразования.

Цель исследования – разработка методики обработки склерального ложа после эндорезекции внутриглазного новообразования с применением фотодинамического воздействия.

Материалы и методы. Под наблюдением находились 3 пациента в возрасте от 56 до 64 лет, которые поступили в клинику с подозрением на наличие внутриглазного новообразования. При обследовании у всех пациентов была диагностирована меланома хориоидеи (МХ) (T3N0M0). Диагноз был подтвержден при проведении флуоресцентной ангиографии глазного дна и ультразвукового В-сканирования. Новообразования во всех случаях локализовались в заднем полюсе глаза; размеры основания составляли от 13 × 15 мм и более, высота – более 8 мм. Острота зрения – неправильная светопроекция. Для исключения риска обсеменения и диссеминации во всех случаях после удаления внутриглазного новообразования пациентам была проведена обработка склерального ложа с использованием фотодинамического воздействия. Техника операции: после эндорезекции внутриглазного новообразования на поверхность склерального ложа наносили фотосенсибилизирующий гель, содержащий фотосенсибилизатор хлоринового ряда, и в воздушной среде осуществляли интраокулярное фотодинамическое воздействие по всей поверхности склерального ложа с захватом окружающих тканей на 1,5 мм.

Результаты. С учетом центральной локализации опухоли острота зрения после операции у пациентов не изменилась. В отдаленном послеоперационном периоде (от 1 до 2 лет) при осмотре глазного дна во всех 3 случаях на месте удаленной МХ определялась хирургическая колобома хориоидеи без признаков пигментации по всему склеральному ложу и периферии. Рецидивов новообразований и отдаленных метастазов ни в одном случае выявлено не было.

Заключение. Вопрос лечения внутриглазных новообразований больших размеров, локализующихся в заднем полюсе глаза, был и остается спорным. По нашему мнению, внедрение новых технологий витреоретинальной хирургии, а также разработка интраокулярных способов, направленных на разрушение опухолевой ткани и снижение риска диссеминации и метастазирования, делает перспективным и обнадеживающим применение органосохраняющих методов лечения данной патологии.

Е.В. Белянина, М.В. Болотникова, М.В. Лыков

ПРИМЕНЕНИЕ ЛАЗЕРНОЙ ДОППЛЕРОВСКОЙ ФЛОУМЕТРИИ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ОБЪЕКТИВНОСТИ ИЗМЕРЕНИЯ КАРРАГИНАН–ИНДУЦИРОВАННОГО ОТЕКА У КРЫС

ООО «МБЦ «Генериум», Москва

Введение. Модель каррагинан-индуцированного отека (КИО) является классической моделью *in vivo* для оценки терапевтической эффективности противовоспалительных лекарственных препаратов. В основе патогенеза КИО лежит острое экссудативное воспаление, в котором важную роль играют нарушения микроциркуляции. При этом используемые методы оценки выраженности отека (например, взвешивание ампутированной отечной лапы) не обладают высокой достоверностью. К одному из современных методов исследования, позволяющему оценить состояние микроциркуляторного русла на тканевом уровне, относится лазерная допплеровская флоуметрия (ЛДФ).

Цель исследования – оценка выраженности КИО у крыс по микроциркуляции с использованием ЛДФ.

Материалы и методы. Исследование проведено на 20 аутбредных самцах крыс Sprague Dawley массой тела 200–210 г; 1-я группа ($n = 10$) – контрольная, 2-я ($n = 10$) – опытная. Животных содержали в соответствии с установленными международными нормами. При воспроизведении модели КИО в левую лапу крыс обеих групп субплантарно под подошвенный апоневроз вводили 1 % раствор каррагинана в объеме 100 мкл. Животным 2-й группы после инъекции каррагинана внутримышечно вводили диклофенак в объеме 50 мкл (доза 3 мг/кг). Микроциркуляцию у крыс регистрировали до введения каррагинана и к 5, 10, 30, 60 и 180-й минутам после введения каррагинана в области подошвенного апоневроза (в 3 точках) с помощью ЛДФ-датчика аппарата MP150 (BIOPAC, США). Одновременно на сроке 3 ч определяли отек стандартным способом (взвешивание лапок). Анализ ЛДФ-грамм и расчет параметра микроциркуляции проводили с использованием программного обеспечения AcqKnowledge (BIOPAC, США).

Результаты. Капиллярный кровоток у животных 1-й и 2-й групп до инъекции каррагинана составил 26,5 ± 0,8 TRU (мл/мин на 100 г ткани). После инъекции каррагинана к 5-й минуте отмечено снижение микроциркуляции –

14,6 ± 1,2 TRU (1-я группа) и 14,7 ± 1,5 TRU (2-я группа) – кратковременный спазм сосудов. К 10-й минуте у животных наблюдалось резко выраженное усиление капиллярного кровотока (артериальная гиперемия) – 27,7 ± 1,5 TRU (1-я группа), 23,3 ± 1,0 TRU (2-я группа). На 30-й минуте – состояние венозной гиперемии, снижение микроциркуляции у животных 1-й группы на 60 % от нормы – 11,0 ± 1,8 TRU, 2-й группы – снижение кровотока на 40 % – 16,0 ± 1,9 TRU. К 3 ч сохранность капиллярного кровотока у животных 1-й группы составляет 28 % – 7,4 ± 0,7 TRU, вес лапки увеличен на 28 ± 1,5 %; во 2-й группе – 73 % – 19,4 ± 1,5 TRU, вес лапки увеличен на 14 ± 1,0 % от нормы. Показана высокая степень корреляции данных, полученных предлагаемым и стандартным методами.

Заключение. Использование ЛДФ в модели КИО у крыс позволяет прижизненно и в динамике оценить влияние лекарственных препаратов на состояние микроциркуляции, отличается точностью и высокой чувствительностью.

Ю.В. Береснева[1], Ф.А. Ибрагимов[1], Ю.Ю. Ассесорова[2], Ш.Н. Мусаева[2]

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА СОЯФЛАН НА ИНДУЦИРОВАННЫХ ОПУХОЛЯХ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У МЫШЕЙ

[1]Институт биоорганической химии АН Республики Узбекистан, Ташкент, Республика Узбекистан;
[2]РОНЦ Минздрава Республики Узбекистан, Ташкент, Республика Узбекистан

Введение. Примерно 30 % злокачественных новообразований молочной железы у женщин эстрогенозависимы. В качестве потенциальных противоопухолевых средств привлекли к себе внимание фитоэстрогены (изофлавоноиды) природного происхождения. В Институте биоорганической химии АН Республики Узбекистан получена стандартизированная комбинация полипептидов из сои с молекулярной массой 12,5–79,0 кДа, богатая изофлавонами (содержание дайдзеина 1,2 ± 0,03 мг, генистеина – 2,3 ± 0,2 мг на 1 г белка), – препарат Сояфлан.

Цель исследования – изучение противоопухолевой активности препарата Сояфлан на индуцированных опухолях молочной железы у мышей и оценка изменений гормонального статуса крови как возможного механизма антиканцерогенного действия препарата.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен на 40 беспородных мышах-самках с первоначальной массой тела 18–23 г. Индуцирование рака молочной железы (РМЖ) проводили путем введения канцерогена – N-метилнитрозомочевины (N-МНМ). Разовая доза N-МНМ составила 0,84 мг на мышь в 0,2 мл воды для инъекции. Канцероген вводили животным 1 раз в неделю в течение 5 нед путем подкожной инъекции в область молочной железы у основания левой передней лапки. Сояфлан растворяли в дистиллированной воде и вводили зондом в желудок мышам в дозе 75 мг/кг 5 раз в неделю в течение 5 нед. Контрольной группе вводили только канцероген в указанном режиме. По окончании эксперимента (112-е сутки от начала) животные были умерщвлены методом декапитации с последующим вскрытием и оценкой развития опухолевого процесса. Концентрацию гормонов (эстрадиола, лютеинизирующего гормона (ЛГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ)) в сыворотке крови определяли ферментоиммунологическим методом, используя реагенты коммерческих наборов.

Результаты. Средний объем опухоли у животных, которым вводили Сояфлан, был в 2,3 раза меньше, чем у мышей группы контроля. Гистологическое исследование опухолевых узлов показало комплексы полиморфных атипичных клеток с полиморфными гиперхромными ядрами среди умеренно развитой стромы. Введение Сояфлана в опытной группе по сравнению с контролем снижало уровень эстрадиола на 25,0 % ($p < 0,05$), ЛГ – на 22,2 % ($p < 0,05$), ФСГ – на 11,6 % ($p < 0,05$).

Заключение. Введение препарата Сояфлан при индуцировании N-МНМ опухоли молочной железы у мышей задерживает развитие злокачественного новообразования, уменьшая объем опухолевого узла. Сояфлан умеренно снижает концентрацию эстрадиола, ЛГ и ФСГ, что позволяет рассматривать его как потенциальное средство профилактики гормонозависимого РМЖ.

В.Н. Богатырев, И.К. Воротников

ВОЗМОЖНОСТИ ЦИТОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ И ПРОГНОЗА ЛИСТОВИДНЫХ ОПУХОЛЕЙ И САРКОМ МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Согласно новой классификации опухолей молочных желез (Всемирная организация здравоохранения, 2012) в группе фиброэпителиальных опухолей «перидуктальную стромальную саркому низкой степени злокачественности» переименовали в «перидуктальную стромальную опухоль низкой степени злокачественности» (9020/3) и отнесли к подразделу «листовидные опухоли». Поэтому с помощью лазерной ДНК-проточной цитофлуорометрии для объективизации диагностических признаков актуально изучить количественные особенности клеток листовидных опухолей и сарком молочных желез.

Цель исследования – проанализировать взаимосвязь плоидности и количественных параметров клеток опухоли со степенью морфологической дифференцировки и показать возможности цитологической диагностики и прогноза при листовидных опухолях и саркомах молочных желез.

Материалы и методы. У 132 пациенток с листовидными опухолями и 50 с саркомами молочных желез проведено цитологическое исследование опухолей, включая ДНК проточную цитофлуорометрию (программа MultiCycle, Phoenix Flow Systems, США) и гистологический анализ материала в соответствии с классификацией опухолей молочной железы (Всемирная организация здравоохранения, 2003, 2012).

Результаты. Морфологический вариант опухоли тесно взамосвязан с плоидностью новообразования. При доброкачественных и промежуточных вариантах листовидных опухолей не отмечено анеуплоидных новообразований. В то время как при злокачественных листовидных опухолях и саркомах молочных желез анеуплоидия выявлена в 20 и 92,3 % случаях соответственно ($p < 0,05$). Различные морфологические варианты листовидных опухолей достоверно различаются по своим пролиферативным характеристикам: так, индекс пролиферации при доброкачественных листовидных опухолях составляет 20,08 ± 1,35 %, при промежуточ-

ных – 25,33 ± 2,02 %, а при злокачественных – 31,23 ± 2,71 % ($p < 0,05$). Индекс пролиферации при саркомах молочных желез почти соответствует таковому при злокачественных листовидных опухолях. Высокий уровень пролиферативной активности первичной опухоли при доброкачественных листовидных опухолях достоверно ($p < 0,05$) ассоциируется с развитием местного рецидива. Развитие метастатического процесса при саркомах молочных желез достоверно чаще ($p < 0,05$) отмечено при высоких значениях индекса пролиферации первичной опухоли (34,46 ± 2,77 %); при отсутствии отдаленных метастазов – 26,35 ± 0,69 %.

Заключение. Неблагоприятные клинико-морфологические факторы диагностики и прогноза у больных со злокачественными листовидными опухолями и саркомами молочных желез сочетаются с несколькими количественными параметрами клеток опухоли: анеуплоидия, увеличение количества клеток в S- и G2 + M-фазах клеточного цикла, повышение их индекса пролиферации.

Т.Н. Богатыренко[1], З.В. Куроптева[2], Л.Н. Байдер[2], И.В. Серков[3], В.Р. Богатыренко[1], Т.Е. Сашенкова[1], Е.Н. Климанова[1], Д.В. Мищенко[1], Н.П. Коновалова[1]

ПУТИ УСИЛЕНИЯ ХЕМОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ДОНОРОВ ОКСИДА АЗОТА НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ ПРИ ХЕМОТЕРАПИИ ЦИТОСТАТИКАМИ. ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ ЦИТОХРОМА P450

[1]ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область;
[2]ФГБУН «ИБХФ им. Н.М. Эмануэля» РАН, Москва;
[3]ФГБУН ИФАВ РАН, Черноголовка, Московская область

Введение. К одним из важных факторов, определяющих баланс положительных и отрицательных эффектов действия оксида азота (NO), относят количество и продолжительность его генерации. NO-опосредованное изменение активности лекарственных веществ через P450 может стать одним из серьезных механизмов, на который можно воздействовать для оптимизации химиотерапии опухолей.

Цель исследования – изучить влияние органического NO-донорного соединения, относящегося к классу нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) (индометацин-NO (Ind-NO)) на изменение активности цитохрома P-450 и на усиление противоопухолевого действия циклофосфана (ЦФ) и его композиций с аспарагингидроксамовой кислотой.

Материалы и методы. Противоопухолевую активность изучали на лимфолейкозе P388 мышей линии BDF1. Критерием эффективности лечения служило изменение средней продолжительности жизни и показатель ILS % (the increasing of life span). Соединения вводили внутрибрюшинно: ЦФ в дозе 20 мг/кг – двукратно на 1-е и 6-е сутки после перевивки опухоли; Ind-NO в дозе 30 мг/кг и аспарагингидроксамовую кислоту в дозе 40 мг/кг – ежедневно в течение 7 сут. Исследования метаболических парамагнитных центров в печени животных проводили по ранее описанной методике для измерений электронного парамагнитного резонанса.

Результаты. Ранее нами исследовалось действие диклофенакгидроксамовой кислоты·HNO_3. В отличие от ее, Ind-NO не является гидроксамовой кислотой. Но при биотрасформации обоих соединений образуется NO. Было показано, что оба модифицированных НПВП усиливают противоопухолевую активность ЦФ, но HNO_3, помимо повышения средней продолжительности жизни и ILS % приводит почти к полному вылечиванию животных, а в случае введения Ind-NO выживших животных не было. При добавлении в композицию с Ind-NO аспарагингидроксамовой кислоты средняя продолжительность жизни и ILS % увеличивались, но выживших животных не появлялось. Исследования динамики изменения активности цитохрома P450 под действием обоих модифицированных НПВП показало, что его временное ингибирование имеет место в обоих случаях, но пролонгация ингибирования цитохрома P450 при введении HNO_3 более длительная, чем у Ind-NO.

Заключение. Таким образом, продолжительность ингибирования цитохрома P450 под действием разных доноров NO влияет на активность ЦФ.

С.С. Богачев, А.С. Проскурина, Т.С. Твоздева, Е.А. Поттер, Е.В. Долгова, К.Е. Орищенко, В.П. Николин, Н.А. Попова, Е.Р. Черных, А.А. Останин, О.Ю. Леплина, Н.А. Вараксин, Т.Г. Рябичева, В.В. Дворниченко, Д.М. Пономаренко, С.В. Сидоров

РЕЗУЛЬТАТЫ II ФАЗЫ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРЕПАРАТА ПАНАГЕН И ДАННЫЕ ПО 5-ЛЕТНЕЙ БЕЗРЕЦИДИВНОЙ ВЫЖИВАЕМОСТИ ПАЦИЕНТОВ, УЧАСТВОВАВШИХ В ИССЛЕДОВАНИИ

ФИЦ ИЦГ СО РАН, Новосибирск

Введение. В экспериментальной части многолетнего исследования было показано, что препарат Панаген, активной субстацией которого является фрагментированная дезоксирибонуклеиновая кислота человека, обладает лейкопротекторным/лейкостимулирующим действием, активирует профессиональные свойства дендритных клеток и индуцирует развитие противоракового адаптивного иммунного ответа.

Цель исследования – проведение II фазы клинических исследований препарата Панаген, назначаемого при лечении рака молочной железы (РМЖ) человека непрерывно в течение нескольких последовательных курсов химиотерапии в качестве лейкопротектра/лейкостимулятора.

Материалы и методы. Проведена II фаза клинических исследований препарата Панаген с участием пациентов, больных РМЖ II–IV стадии (плацебо, $n = 20$, Панаген, $n = 60$). По протоколу препарат назначался в качестве лейкопротектора/лейкостимулятора при проведении 3 курсов химиотерапии по схемам FAC и AC. Дополнительно было оценено развитие адаптивного иммунного ответа. Проанализирована общая 5-летняя безрецидивная выживаемость пациентов.

Результаты. Было обнаружено, что за счет действия активной субстанции препарата на мононуклеары пейеровых бляшек, их активацию, выход на периферию и через секрецию ими палитры специфических цитокинов Панаген оказывает устойчивое, не абортивное лейкопротекторное/лейкостимулирующее действие. При этом препарат активирует профессиональные свойства дендритных клеток пейеровых бляшек и индуцирует развитие противоракового адаптивного Т-клеточного иммунного ответа. Препарат Панаген является протектором системы клеток

врожденного противоракового иммунитета и гепатопротектором. Общая 5-летняя безрецидивная выживаемость пациентов в группе плацебо составила 36 % ($n = 11$), в группе Панагена – 55 % ($n = 33$). Среди пациентов со стадией IIIb – с 5-летняя безрецидивная выживаемость в группе плацебо составила 20 % ($n = 5$), в группе Панагена – 55 % ($n = 11$).

Заключение. Препарат Панаген может эффективно использоваться в качестве лейкопротекторного/лейкостимулирующего средства при проведении нескольких последовательных курсов химиотерапии. Одновременно препарат активирует адаптивный противораковый иммунитет, что согласуется с существенным повышением уровня 5-летней безрецидивной выживаемости.

Т.А. Богуш, С.А. Калюжный, Е.А. Дудко, А.С. Тюляндина, Е.А. Богуш, Н.О. Вихлянцева, С.А. Тюляндин

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОК АСЦИТНОГО РАКА ЯИЧНИКОВ (ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ С ПРИВЛЕЧЕНИЕМ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОФЛУОРИМЕТРИИ)

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Асцитный рак яичников – это диссеминированная стадия заболевания, при котором отмечается устойчивость практически ко всем схемам химиотерапии, применяющимся при лечении солидной формы рака яичников. Анализ клинических результатов терапии этого заболевания, позволил нам высказать предположение, что асцитный рак яичников – это самостоятельное заболевание, лечение которого требует не стандартных препаратов, применяемых при солидной форме рака яичников, а противоопухолевых средств, эффективных при терапии опухолей других нозологических групп. Если это так, по молекулярной характеристике клетки солидной и асцитной форм рака яичников должны отличаться принципиально не только на количественном уровне экспрессии молекулярных маркеров, но и качественно: «есть – нет».

Цель исследования – проверка правильности сформулированной гипотезы.

Материалы и методы. Сравнительная оценка молекулярной характеристики солидной и асцитной форм рака яичников ($n = 14$) проведена с использованием иммунофлуоресцентного анализа, ассоциированного с проточной цитофлуориметрией. Уровень экспрессии цитокератина, виментина и CD45 (количество специфически окрашенных клеток относительно показателя при инкубации с вторичными антителами) проанализирован с помощью программы FlowJo 10.0 и статистического критерия Колмогорова–Смирнова.

Результаты. 1. При диссеминации рака яичников по брюшине в асцитической жидкости выявляются эпителиальные опухолевые клетки (цитокератин-положительные), несущие лейкоцитарный антиген CD45 и виментин. 2. При двойном окрашивании антителами к CD45 и к цитокератину показано, что в асцитической жидкости все цитокератин-положительные опухолевые клетки презентируют CD45. 3. При двойном окрашивании антителами к виментину и цитокератину показано, что все цитокератин-положительные клетки асцитного рака яичников экспрессируют виментин.

Заключение. После диссеминации по брюшине и «выхода» в брюшную полость клетки солидного рака яичников приобретают ряд важнейших молекулярных характеристик: 1) несвойственный эпителиальным клеткам рост в жидкой среде при отсутствии контакта с субстратом и соседними клетками (дедифференцировка); 2) активное поглощение опухолевыми клетками гемопоэтических; 3) тотальный фенотип эпителиально-мезенхимального перехода. Таким образом, подтверждена гипотеза, что асцитный рак яичников может представлять самостоятельное заболевание, лечение которого требует не стандартных препаратов, применяемых при солидной форме заболевания, а противоопухолевых лекарств, эффективных при лечении опухолей других нозологических групп.

Поддержано РФФИ (гранты № 15-04-06991-а и № 16-34-01049 мол-а).

В.К. Боженко, Т.М. Кулинич

ПОИСК ПЕПТИДНЫХ ИНГИБИТОРОВ ДЛЯ КЛЮЧЕВЫХ РЕГУЛЯТОРОВ КАНЦЕРОГЕНЕЗА

ФГБУ РНЦРР Минздрава России, Москва

Введение. Большинство ключевых онкогенов представляют собой внутриядерные транскрипционные факторы, например, такие как E2F1, cMyc, cJun, cFos и др. Их активация приводит к образованию гетеро- и/или гомодимеров, регулирующих транскрипцию соответствующих генов.

Цель исследования. До настоящего времени не удалось создать низкомолекулярные соединения, способные нарушать работу таких комплексов с целью фармакологического регулирования их активности. Ряд других подходов для регулирования этих участков передачи внутриклеточного сигнала, такие как РНК-интерференция или генная терапия, находятся на разных стадиях исследования.

Материалы и методы. Мы применили технологию поиска пептидных ингибиторов межбелкового взаимодействия на основе анализа комплексов *in silico*. В рамках этой технологии нами исследован спектр химерных пептидных конструкций, включающих в составе одной полипептидной цепи транспортные последовательности (в качестве технологии внутриклеточной доставки использовали пептиды, проникающие в клетки) и функциональные последовательности, таргетно ингибирующие целевые внутриклеточные мишени, такие как cyclin D, CDK4, Ras, E2F1 и др.

Результаты. Из полученной библиотеки пептидов удалось выявить перспективные последовательности: молекулы – кандидаты, ингибирующие взаимодействие совокупностей целевых комплексов. В экспериментах *in vitro* показано, что $ИС_{50}$ для этих пептидов колеблется от 5 до 20 мкМ.

Заключение. Показано, что применение технологии *in silico* анализа взаимодействия белок–пептид позволяет сузить спектр пептидов – кандидатов для поиска функционально активных последовательностей.

Работа поддержана грантами Министерства образования и науки № 14.N08.11.0057, Министерства промышленности и технологии № 11411.1008700.13.131.

Л.З. Болиева[1], Ю.М. Букреев[2], И.М. Лученко[2], В.В. Решетникова[2], Н.Ю. Соколов[3], И.Ж. Шубина[2], А.В. Сергеев[2]

АНТИКАНЦЕРОГЕННЫЕ И ДРУГИЕ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРЕПАРАТОВ КАСКАТОЛ, ТОМАТОЛ И ЧАГОЛЮКС

[1]ГБОУ ВПО СОГМА Минздрава России, Владикавказ;
[2]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;
[3]ФГКУ «ГВКГ им. Н.Н. Бурденко» Минобороны России, Москва

Введение. Препараты Каскатол и Томатол разработаны нами на основе полиеновых соединений (β-каротин, ликопин и др.), которые обладают ярко выраженными антиоксидантными свойствами. Чаголюкс создан на основе экстракта трутового гриба чаги, проявляющего антитоксическое и другие свойства.

Цель исследования – изучение антиканцерогенных, антимутагенных и иммуномодулирующих свойств Каскатола, Томатола и Чаголюкса, в том числе при их комбинированном применении.

Материалы и методы. Антиканцерогенную активность препаратов изучали на стандартной модели химического канцерогенеза у крыс линии Вистар. Опухоли желудочно-кишечного тракта и печени индуцировали N-нитрозодиэтиламином и верифицировали гистологически. Препараты давали с пищей 3 раза в неделю на протяжении всего эксперимента. Пролиферативную и цитотоксическую активность спленоцитов определяли с помощью ^{3}H-тимидина и меченных ^{51}Cr клеток-мишеней в смешанной культуре лимфоцитов мышей BALB/c.

Результаты. Препараты Каскатол, Томатол и Чаголюкс тормозили развитие опухолей желудочно-кишечного тракта и печени на 30–40 %, удлиняли латентный период появления опухолей и увеличивали продолжительность жизни животных. Комбинированное применение Каскатола и Чаголюкса, Томатола и Чаголюкса незначительно, но достоверно увеличивало их антиканцерогенную активность. Все препараты уменьшали частоту хромосомных аберраций в клетках костного мозга крыс, индуцированных канцерогеном. Все препараты и их комбинации увеличивали пролиферативную и цитотоксическую активность спленоцитов в смешанной культуре лимфоцитов и уменьшали иммунодепрессию, индуцированную аранозой.

Заключение. Каскатол, Томатол и Чаголюкс обладают антиканцерогенными и другими свойствами и могут рассматриваться как потенциальные средства химиопрофилактики рака.

Л.М. Борисова[1], З.С. Смирнова[1], М.П. Киселева[1], А.В. Ланцова[1], Е.В. Санарова[1], Н.А. Оборотова[1], В.В. Мусияк[2], Т.В. Матвеева[2], Г.Л. Левит[2], В.П. Краснов[2], М.А. Барышникова[1], З.С. Шпрах[1]

ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ОРМУСТИНА ПРИ ДЕЙСТВИИ НА РАЗВИВШУЮСЯ МЕЛАНОМУ В16 В СРАВНЕНИИ С МЮСТОФОРАНОМ

[1]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;
[2]ФГБУН «ИОС им. И.Я. Постовского» УрО РАН, Екатеринбург

Введение. В ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН (Екатеринбург) разработано новое нитрозоуреидопроизводное диаминокарбоновой кислоты L-орнитина из класса нитрозомочевин – Ормустин. Соединение вызывает интерес в отношении расширения спектра противоопухолевого действия лекарственных средств этого класса.

Цель исследования – доклиническое изучение Ормустина для разработки препарата с более высокой избирательностью противоопухолевого действия.

Материалы и методы. Специфическую противоопухолевую активность Ормустина изучали на перевиваемой меланоме В16. Использовали иммунокомпетентных самок мышей-гибридов BDF_1 с массой тела 20–22 г. Меланому В16 перевивали по стандартной методике. Критериями эффективности считали торможение роста опухоли (%) и увеличение продолжительности жизни подопытных мышей по сравнению с контрольными (%). Ормустин в терапевтической дозе 125 мг/кг вводили однократно внутривенно (в/в) на 9-е сут после перевивки опухоли. Препарат сравнения – Мюстофоран (Les Laboratoires Servier, Франция), являющийся цитостатическим антимитотическим средством из группы нитрозомочевин и обладающий алкилирующим и карбамилирующим действием – вводили мышам двукратно в/в с интервалом 96 ч на 9-е и 13-е сут после трансплантации опухоли в разовой дозе 30 мг/кг, суммарная доза – 60 мг/кг. Средний объем опухоли к началу лечения составил 500 мм^3 при колебании не более 10 %.

Результаты. Ормустин проявляет высокую противоопухолевую активность и тормозит рост развившейся опухоли меланомы В16 в течение 9 дней после окончания лечения на 84–91 %. К 13-м суткам после окончания лечения противоопухолевый эффект несколько снижается и торможение роста опухоли составляет 63 %. Мюстофоран в эти же сроки тормозит рост меланомы В16 на 82–93 % и 82 % соответственно. При этом оба препарата вызывают практически равное увеличение продолжительности жизни, которое составляет 44 и 46 % соответственно.

Заключение. Ормустин в дозе 125 мг/кг при однократном в/в введении проявляет высокую противоопухолевую активность в отношении развившейся опухоли и равен по терапевтическому действию Мюстофорану в отношении развившейся меланомы В16.

А.А. Боровский[1], А.С. Федулов[1], И.И. Сакович[2], С.В. Шляхтин[3], Т.В. Трухачева[3]

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИНТРАОПЕРАЦИОННОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ С ПРЕПАРАТОМ ФОТОЛОН У ПАЦИЕНТОВ С ГЛИОБЛАСТОМОЙ

[1]УО Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь;
[2]УЗ ГКБ СМП, Минск, Республика Беларусь;
[3]РУП «Белмедпрепараты», Минск, Республика Беларусь

Введение. Одним из современных подходов в составе комплексного лечения глиальных опухолей является фотодинамическая терапия. Фотолон – фотосенсибилизатор 2-го поколения, разработан и изготовлен РУП «Белмедпрепараты» (Республика Беларусь).

Цель исследования – улучшить результаты лечения пациентов с первичными инфильтративными опухолями головного мозга путем применения интраоперационной фотодинамической терапии с фотосенсибилизатором Фотолон.

Материалы и методы. В исследуемую группу включены 49 пациентов с глиобластомой. После радикального удаления опухоли с помощью программируемого шприцевого дозатора внутривенно вводили фотосенсибилизатор Фотолон в дозе 1,6–2,5 мг/кг. Лазерное облучение ложа удаленной опухоли проводили полуконтактным методом через 15–20 мин от начала введения Фотолона в рассчитанном отрезке времени и мощности излучения до достижения общей поглощенной световой дозы 50–250 Дж/см^2 в зависимости от предполагаемой морфологической структуры опухоли, глубины инфильтрации в ткани мозга и полноты ее удаления. Дальнейшее лечение проводилось согласно стандартному протоколу. В группе сравнения наблюдалось 53 пациента с глиобластомой, которые были пролечены в соответствии со стандартным протоколом (хирургическое вмешательство, химио- и лучевая терапия). В качестве конечных точек исследования рассматривались показатели выживаемости.

Результаты. В исследуемой группе кумулятивная доля выживших в течение 1 года составила 57 %, медиана выживаемости – 64 нед, бессобытийная выживаемость – 40 нед. В группе сравнения кумулятивная доля выживших в течение 1 года составила 27 %, медиана выживаемости – 38 нед, бессобытийная выживаемость – 26 нед.

Заключение. Адъювантная интраоперационная фотодинамическая терапия с фотосенсибилизатором Фотолоном значительно увеличивает 1-летнюю выживаемость пациентов с глиобластомой, повышает медиану выживаемости, а также бессобытийную выживаемость.

А.А. Борунова, Г.З. Чкадуа, Т.Н. Заботина, О.В. Короткова, Д.В. Табаков, И.Н. Михайлова, Н.Н. Петенко, З.Г. Кадагидзе

ФЕНОТИП ЛИМФОЦИТОВ БОЛЬНЫХ МЕЛАНОМОЙ КОЖИ ПРИ БИОТЕРАПИИ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Исследования противоопухолевых вакцин на основе дендритных клеток в РОНЦ им. Н.Н. Блохина ведутся с 2002 г., и у ряда больных длительность ремиссии на фоне данной терапии на сегодняшний день составляет более 10 лет.

Цель исследования – изучение иммунофенотипа лимфоцитов у больных меланомой кожи при иммунотерапии аутологичными дендритными клетками, нагруженными опухолевым лизатом.

Материалы и методы. Исследован иммунофенотип лимфоцитов периферической крови у 30 здоровых доноров и 30 больных диссеминированной меланомой кожи. Всем пациентам проводилась иммунотерапия аутологичными дендритными клетками, нагруженными опухолевым лизатом. Анализ клинико-иммунологических показателей проводился по данным за 2004–2014 г. Данное иммунологическое исследование было проведено до начала терапии дендритными клетками.

Результаты. У большей части больных (60 %; $n = 18$) количество CD3$^+$-клеток до начала лечения было в пределах нормальных значений. Нормальное соотношение субпопуляций CD4$^+$- и CD8$^+$-лимфоцитов было только у 12 пациентов. У оставшихся 6 (20 %) больных выявлено увеличение субпопуляции CD8$^+$-лимфоцитов. У этих пациентов на фоне терапии отмечалось прогрессирование заболевания. Более детальный анализ выборки больных с нормальным содержанием Т-лимфоцитов и нормальным соотношением CD4$^+$-и CD8$^+$-клеток выявил наличие у 3 пациентов повышенного количества NKT-лимфоцитов (CD3$^+$CD16$^+$ CD56$^+$). У этих больных на фоне терапии было установлено прогрессирование заболевания. У оставшихся 9 пациентов отмечена длительная ремиссия на фоне терапии дендритными клетками (8–10 лет). Угнетение Т-клеточного звена иммунитета наблюдалось у 9 (30 %) больных, и ни для кого из них терапия дендритными клетками не стала эффективной. Еще у 3 пациентов количество Т-клеток значительно превышало норму, при этом только у 1 из них соотношение субпопуляций Т-лимфоцитов было в норме и отсутствовала субпопуляция NKT-клеток. У этого пациента на фоне применения терапии дендритными клетками наблюдалась длительная ремиссия, которая на сегодняшний день составляет 7 лет 6 мес. У оставшихся больных увеличение количества Т-клеток происходило за счет только субпопуляции CD8$^+$-лимфоцитов, а также отмечалось увеличение NKT-клеток. Применение терапии дендритными клетками у этих больных было неэффективным.

Заключение. Таким образом, эффективность терапии дендритными клетками отмечается у больных с сохранным количеством и структурой (соотношение CD4$^+$- и CD8$^+$-клеток и отсутствие NKT-лимфоцитов) Т-клеточного звена иммунитета. Неоднородность иммунных нарушений в группе пациентов с прогрессирующим течением заболевания указывает на различные причины неэффективности метода, каждая из которых требует своего персонифицированного подхода к иммунотерапии. Так, стимуляция терапией дендритными клетками Т-клеточного цитотоксического ответа у онкологических больных с низким количеством Т-лимфоцитов требует предварительной иммунной коррекции, направленной на восстановление Т-клеточного звена иммунитета. Включение иммунологических критериев в факторы отбора больных для терапии дендритными клетками позволит увеличить эффективность метода.

Е.В. Бочаров[1], Р.В. Карпова[1], О.А. Бочарова[1], Н.А. Брусенцов[1], В.Г. Кучеряну[2], Н.Е. Кушлинский[1]

СТРЕСС-ГОРМОН КОРТИКОСТЕРОН ПОДАВЛЯЕТСЯ МУЛЬТИФИТОАДАПТОГЕНОМ ПРИ ГЕПАТОКАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

[1]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва; [2]ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», Москва

Введение. Стресс является составной частью этиопатогенеза различных заболеваний, в том числе злокачественных новообразований. Повышение в крови наиболее активного глюкокортикоида кортизола (кортикостерона у мышей) усиливает катаболизм в тканях, особенно в лимфоидных органах. При этом снижается функциональная активность ретикулоэндотелиальной системы, что способствует приживлению и развитию метастазов. Вместе с тем глюкокортикоиды оказывают гипергликемический эффект, создавая благоприятные трофические условия для опухолей.

Цель исследования – изучение возможности коррекции стресс-гормона кортикостерона в крови у мышей-сам-

цов линии СВА при воздействии мультифитоадаптогена в раннем постнатальном онтогенезе.

Материалы и методы. Стандартизованный сухой экстракт мультифитоадаптогена, включающего компоненты 40 растительных экстрактов (женьшеня, родиолы розовой, элеутерококка и др.), обладает, в том числе, иммуномодулирующим, антимутагенным, антиоксидантным эффектами. Эксперимент проводили на 200 мышах-самцах линии СВА. Мыши группы контроля получали воду; мыши опытной группы – 0,3 % раствор препарата в течение 1-го мес жизни, захватывая период, соответствующий дифференцировке нормальной ткани печени. Концентрацию кортикостерона в сыворотке крови мышей определяли в возрасте 4, 8, 22 мес иммуноферментным методом.

Результаты. У мышей контрольной группы с увеличением возраста выявлено постепенное нарастание концентрации кортикостерона в крови. К 8-месячному возрасту значение данного показателя повысилось с 75,6 ± 1,7 до 96,5 ± 7,2 нг/мл, $p_{4-8} = 0,01$; к 22-месячному возрасту – до 140,0 ± 4,5 нг/мл, $p_{8-22} = 0,0002$. У мышей опытной группы к 8-месячному возрасту отмечалась лишь тенденция к увеличению уровня кортикостерона в сыворотке крови (с 69,2 ± 2,9 до 79,1 ± 3,6 нг/мл, $p_{4-8} = 0,05$). В позднем онтогенезе у опытных мышей концентрация кортикостерона (105,0 ± 1,9 нг/мл) была достоверно снижена по сравнению с контролем в этом же возрасте ($p_{1-2} = 0,0002$).

Заключение. Кратковременное воздействие мультифитоадаптогена в раннем постнатальном онтогенезе у мышей высокогепатомной линии СВА предотвращало повышение стресс-гормона кортикостерона. Вместе с тем гормономодулирующий эффект сопровождался повышением иммунореактивности организма, связанной с усилением экспрессии лейкоцитарных интегринов, а также нормализацией уровня IL6 и IL10.

Е.В. Бочаров[1], Р.В. Карпова[1], О.А. Бочарова[1], Н.А. Брусенцов[1], В.Г. Кучеряну[2], Н.Е. Кушлинский[1]

МУЛЬТИФИТОАДАПТОГЕН РЕГУЛИРУЕТ ТЕСТОСТЕРОН ПРИ ГЕПАТОКАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

[1]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;
[2]ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», Москва

Введение. Тестостерон – основной анаболический гормон, который является одним из ключевых сигнальных веществ в регуляции репродуктивного, энергетического гомеостазов, иммунной реактивности организма.

Цель исследования – изучение уровня тестостерона у мышей-самцов линии СВА при спонтанном гепатоканцерогенезе и возможности его коррекции при воздействии мультифитоадаптогена в раннем постнатальном онтогенезе.

Материалы и методы. Стандартизованный сухой экстракт на основе мультифитоадаптогена, включающего компоненты 40 растительных экстрактов (женьшеня, родиолы розовой, элеутерококка и др.) и обладающего иммуномодулирующим, интерфероногенным, антимутагенным, антиоксидантным, радиопротекторным эффектами; 200 мышей-самцов инбредной линии СВА с высокой частотой спонтанных гепатом. Контрольные мыши получали в качестве питья воду; опытные – 0,3 % раствор сухого экстракта мультифитоадаптогена в течение 1 мес постнатального онтогенеза. Концентрацию тестостерона в сыворотке крови мышей определяли в возрасте 4, 8 и 22 мес иммуноферментным методом.

Результаты. В возрасте 4 мес у животных контрольной и опытной групп концентрация тестостерона в крови составила 2,6 ± 0,3 и 3,6 ± 0,4 нг/мл соответственно ($p_{1-2} = 0,07$). В онтогенезе у мышей обеих групп отмечено снижение в крови данного показателя. Вместе с тем уже в возрасте 8 мес у мышей контрольной группы выявлен более низкий уровень тестостерона в крови (1,6 ± 0,4 нг/мл) по сравнению с опытными животными (2,8 ± 0,2 нг/мл; $p_{1-2} = 0,01$). В позднем онтогенезе это отставание становится более ярко выраженным. В контрольной группе концентрация тестостерона составила 0,3 ± 0,1 нг/мл, в опытной – 0,8 ± 0,1 нг/мл ($p_{1-2} = 0,001$).

Заключение. Воздействие сухого экстракта фитоадаптогена в раннем постнатальном онтогенезе (в течение 1 мес жизни, захватывая период, соответствующий дифференцировке нормальной ткани печени), оказало гормономодулирующий эффект у мышей высокогепатомной линии СВА, предотвращая снижение уровня анаболического гормона тестостерона. Гормономодулирующий эффект сопровождался усилением иммунореактивности организма, связанной с повышением экспрессии лейкоцитарных интегринов, а также нормализацией уровня IL6 и IL10.

Н.А. Брусенцов[1], О.А. Бочарова[1], И.С. Голубева[1], П.И. Никитин[2], М.П. Никитин[2], Т.Н. Брусенцова[3], В.Д. Кузнецов[3]

ФЕРРИМАГНИТНАЯ ТЕРМОХИМИОТЕРАПИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ КОМБИНАЦИЯМИ МАГНИТОУПРАВЛЯЕМЫХ НАНОЧАСТИЦ

[1]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;
[2]ФГБУН «Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН», Москва;
[3]ФГБОУ ВО «РХТУ им. Д.И. Менделеева», Москва

Введение. Декстранферрит (ДФ) является одним из перспективных магнитоуправляемых нанопрепаратов для создания противоопухолевых систем, поскольку химически инертен, имеет $ЛД_{50}$ 5 г/кг, медленно биодеструктируется и полностью метаболизируется в организме млекопитающих.

Цель исследования – получение и оценка противоопухолевой активности комбинации ДФ, цисплатина (ЦП) и митоксантрона (МК) в виде магнитоуправляемого стерильного золя для внутриопухолевого введения.

Материалы и методы. В качестве магнитоуправляемого носителя комбинации ЦП – МК выбрали ~ 40 % водный золь наночастиц ДФ. Полученный стерильный золь 150 мг ДФ в 200–350 мкл воды медленно вводили по периметру опухолей объемом 45 ± 15 мм^3 20 мышам BDF1 на 7-й день после прививки карциномы Эрлиха. Ферримагнитную термотерапию (ФМТТ) проводили, выдерживая мышей в поле 0,88 МГц, 150 Вт в течение 30 мин. Температура тела не изменялась, температура опухолей повышалась до 48 °С. ЦП 0,03 мг в 200 мкл 0,9 % NaCl вводили 10 мышам по периметру опухоли объемом 42 ± 14 мм^3. В тех же условиях опухоли уменьшались в размерах до 4,6 ± 1,5 мм^3, увеличение продолжительности жизни (УПЖ) составило 93 %.

МК 0,01 мг в 200 мкл 0,9 % NaCl вводили 10 мышам по периметру опухоли объемом 40,00 ± 13 мм^3. В тех же условиях опухоли уменьшались в размерах до 2,8 ± 0,9 мм^3, УПЖ 87 %. Комбинацию ЦП 0,03 мг и МК 0,01 мг в 200 мкл 0,9 % NaCl вводили 10 мышам по периметру опухолей объемом 42 ± 14 мм^3. В тех же условиях опухоли уменьшались в размерах до 1,4 ± 0,5 мм^3, УПЖ 182 %. Золь, содержащий комбинацию: ДФ 150 мг, ЦП 0,03 мг, МК 0,01 мг, вода до 350 мкл, M_s 7,5 кА/м, pH 6,6, ζ +15 мВт, удельная абсорбция энергии 330 Вт/г Fe, вводили 10 мышам после ферримагнитной термохимиотерапии (ФМТХТ) по 30 мин, через 24 ч, в поле 0,88 МГц при температуре 45–48 °С.

Результаты. После 8 процедур ФМТТ по 30 мин через 24 ч в поле 0,88 МГц при температуре 45–48 °С наблюдали уменьшение объема опухолей до 1,6 ± 0,5 мм^3, УПЖ 160 %. После 8 процедур ФМТХТ на контрастных МРТ-изображениях у большей части мышей выявляли повторные опухоли, которые развились из инфильтрировавших до лечения клеток; полная регрессия опухолей 35 %, УПЖ 260 %.

Заключение. Разработали комбинацию, включающую ДФ, ЦП и МК, и определили ее противоопухолевую активность на мышах в условиях ФМТХТ через 7 дней после прививки. Для повышения эффективности ФМТХТ необходимо раннее (до инфильтрации опухолевых клеток в нормальные ткани) выявление опухолей.

О.С. Бурова, Н.В. Голубцова, М.В. Оборотова, Л.Ф. Морозова, А.С. Гриневич, И.М. Луценко, М.А. Барышникова, З.С. Соколова, А.Н. Иншаков, А.Ю. Барышников

ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ ICO-401 ПРОТИВ АНТИГЕНА CD133

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Долгое время считалось, что все клетки опухоли обладают одинаковой способностью инициировать опухоль. Однако на сегодняшний день получены убедительные данные, указывающие на то, что подобной способностью обладает небольшая популяция клеток, называемых стволовыми клетками опухоли. CD133 является одним из маркеров стволовой клетки меланомы.

Цель исследования – получение и характеристика моноклональных антител против антигена CD133 для диагностики и иммунотерапии опухолей

Материалы и методы. Моноклональные антитела (МКА) ICO-401 были получены путем слияния клеток мышиной миеломы NS-1 с клетками селезенки мышей линии BALB/C, предварительно иммунизированных клетками субклона перевиваемой клеточной линии меланомы кожи человека mel Ibr. Слияние проведено при помощи раствора полиэтиленгликоля/диметилсульфоксида (Sigma). Экспрессию антигенов на клеточной поверхности оценивали при помощи реакции непрямой иммунофлуоресценции. Полученные результаты оценивали на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto™ II.

Результаты. Анализ экспрессии CD133 на клетках mel IbrEE34RMCR МКА ICO-401 выявил 80 % антиген-положительных клеток. В качестве положительного контроля использовали МКА CD133/2 (293C3) – PE (MACS Miltenyi Biotec, Германия), которые также реагировали с 80 % клеток линии mel IbrEE34RMCR. Сходство профилей флуоресценции МКА ICO-401-PE и CD133/2 (293C3) – PE позволило предположить, что эти антитела распознают один и тот же эпитоп антигена. Методом конкурентного ингибирования показано, что полученные антитела реагируют с антигеном CD133, так же как и коммерческие антитела CD133/2 (293C3) – PE. Методом антигенной модуляции выявлено, что МКА ICO-401 и МКА CD133/2PE реагируют с разными эпитопами CD133.

Заключение. Получены и охарактеризованы антитела к CD133 ICO-401. Показано, что полученные антитела реагируют с антигеном CD133, так же как и коммерческие антитела CD133/2 (293C3) – PE. Однако при использовании метода антигенной модуляции выяснилось, что ICO-401-PE и CD133/2 (293C3) – PE распознают разные эпитопы CD133.

П.М. Бычковский[1], Ю.Г. Шанько[2], А.В. Ваккер[3], Э.А. Жаврид[3], Ю.Н. Грачев[3], В.В. Синайко[3], Н.А. Артемова[3], Е.А. Короткевич[2], Т.Л. Юркштович[4], Ф.Н. Капуцкий[4], С.А. Беляев[4], Д.А. Адамчик[4]

ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ЦИСПЛАЦЕЛ В КОМБИНИРОВАННОМ И КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С ВЫСОКОЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ (GRADE III–IV) ГЛИАЛЬНЫМИ ОПУХОЛЯМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ПРИ НОВООБРАЗОВАНИЯХ ГОЛОВЫ И ШЕИ

[1]УНП РУП «Унитехпром БГУ», Минск, Республика Беларусь;
[2]ГУ «РНПЦ неврологии и нейрохирургии» Минздрава Республики Беларусь, Минск, Республика Беларусь;
[3]ГУ «РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова», агрогородок Лесной, Республика Беларусь;
[4]НИИ ФХП БГУ, Минск, Республика Беларусь

Цель исследования – оценить эффективность интраоперационной локальной химиотерапии препаратом цисплацел в лечении пациентов с высокозлокачественными (Grade III–IV) глиомами головного мозга и при опухолях в области головы и шеи (Grade IV).

Материалы и методы. В исследование включены 114 пациентов с высокозлокачественными (Grade III–IV) глиальными опухолями головного мозга, в процессе комбинированного либо комплексного лечения 57 из них в ходе хирургического вмешательства после удаления опухоли в ее ложе был имплантирован препарат для интраоперационной химиотерапии цисплацел, остальным 57 локальная химиотерапия не проводилась. По прогностическим факторам, способным оказать влияние на результаты лечения, сравниваемые группы пациентов не различались. В исследование включены 66 больных плоскоклеточным раком органов головы и шеи, у которых во время операции клинически установлена спаянность опухоли с магистральными сосудами и нервами шеи, врастание в глубокие мышцы шеи и др. Контрольная группа состояла из 36 пациентов с идентичными по распространенности опухолями, лечение которых осуществлялось без применения препарата цисплацел.

Результаты. Эффективность цисплацела в качестве противоопухолевого средства послеоперационной локальной химиотерапии супратенториальных глиом головного мозга (Grade III–IV) в сочетании с лучевой терапией оценивается как положительная: наблюдалось достоверное увеличение продолжительности безрецидивного периода с 31,9 ± 2,8 (контрольная группа) до 50,8 ± 3,2 нед (опытная группа) ($p < 0,05$) и продолжительности жизни больных более чем в 2 раза – с 211,0 ± 21,4 до 427,5 ± 28,4 дня. Кумулятивная выживаемость (life table method) в основной группе была выше, чем в контрольной, что также свидетельствует о большей эффективности цисплацела в сравнении с нативным цисплатином. У пациентов с высокозлокачественными глиомами головного мозга в возрасте ≤ 50 лет с радикально или субтотально удаленной опухолью использование цисплацела позволило статистически значимо увеличить как медиану выживаемости – с 14 до 21 мес, так и 1-, 3- и 5-летнюю выживаемость – с 67,6 ± 10,1; 12,1 ± 7,9 и 12,1 ± 7,9 % до 90,9 ± 6,1; 25,3 ± 10,9 и 16,8 ± 10,0 % соответственно ($p = 0,048$). Местное применение цисплацела после нерадикальных удалений первичных и рецидивных опухолей различной локализации на голове и шее привело к полному выздоровлению 51 % пациентов и сокращению количества рецидивов в среднем на 25–40 % по сравнению с контрольной группой больных, что свидетельствует об эффективности местного применения препарата цисплацел.

Заключение. Показана эффективность лекарственного препарата цисплацел.

П.М. Бычковский[1], Т.Л. Юркштович[1], С.О. Соломевич[1], Н.В. Голуб[1], Ф.Н. Капуцкий[1], М.Ю. Ревтович[2], А.А. Кладиев[3], А.И. Шмак[2], Е.Н. Александрова[2], Ю.П. Истомин[2]

МЕХАНИЗМ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ВЕЩЕСТВА ПРОСПИДИНА ИЗ ГИДРОГЕЛЕЙ МОДИФИЦИРОВАННОГО ДЕКСТРАНА

[1]НИИ ФХП БГУ, Минск, Республика Беларусь;
[2]ГУ «РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова», агрогородок Лесной, Республика Беларусь;
[3]ООО «Биотехнологическая компания ТНК», Москва

Введение. Разработка новых систем направленной доставки биологически активных веществ, которые в большинстве случаев являются комбинацией лекарств с полимерным носителем, является крайне актуальной в настоящее время. Включение эффективных биологически активных веществ в состав высокомолекулярных соединений изменяет фармакокинетический профиль лекарств, что приводит к изменению терапевтического эффекта активного вещества, пролонгированию его действия, снижению количества побочных эффектов и позволяет сократить общее количество вводимого биологически активного вещества и оптимизировать его активность.

Цель исследования – изучение высвобождения проспидина из гелеобразующего декстрана с фосфорнокислыми и карбаматными группами (ФКД) для создания пролонгированных биодеградируемых полимер-лекарственных форм.

Материалы и методы. В качестве полимеров – носителей проспидина использовали образцы ФКД с содержанием фосфорнокислых групп 1,7–3,7 ммоль/г и степенью набухания 10–222 г/г. Процесс иммобилизации проспидина образцами ФКД был изучен с помощью методов электронной микроскопии, центрифугирования, лиофильного высушивания, а также химических методов анализа.

Результаты. Установлено, что взаимодействие проспидина с ФКД происходит в основном по механизму физической адсорбции, также часть цитостатиков связывается по ионообменному механизму. Для всех кривых выделения проспидина через целлофановую мембрану в фосфатный буферный раствор, имитирующий физиологическую среду, характерно наличие нескольких участков, обусловленных различными фазами процесса выделения цитостатика из ФКД. Показано, что около 30–40 % цитостатика высвобождается из фазы носителя в течение 10 ч, 60–80 % – в течение 30 ч, дальнейшее высвобождение поддерживается за счет биодеградации полимера. Полученные лекарственные формы деградируют в фосфатном буферном растворе, моделирующем биологические среды организма, в течение 20–40 дней в зависимости от степени сшивания гидрогелей. В результате проведенных доклинических испытаний противоопухолевой эффективности проспидина и его гидрогелевой формы в опытах на животных с перевитыми гепатомой Зайдела, саркомой М-1 и саркомой Йенсена установлено, что пролонгированная форма проспидина с массовым соотношением 1:1 обеспечивает повышение противоопухолевой активности по сравнению с исходным проспидином, увеличение продолжительности терапевтического действия, а также рост числа излечиваемых животных.

Заключение. Создание новых гидрогелевых форм проспидина позволило значительно пролонгировать высвобождение цитостатика и увеличить его противоопухолевую эффективность.

А.А. Вартанян, М.А. Барышникова, О.С. Бурова, Л.В. Эктова, З.С. Шпрах

БЛОКАТОР ВАСКУЛОГЕННОЙ МИМИКРИИ ВОССТАНАВЛИВАЕТ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ РЕЗИСТЕНТНЫХ КЛЕТОК МЕЛАНОМЫ К ДНК-ПОВРЕЖДАЮЩИМ АГЕНТАМ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Классические подходы к лечению опухолей, такие как химиотерапия и лучевая терапия, в случае метастатической меланомы дают недостаточно выраженные эффекты. Агрессивное распространение заболевания на ранних стадиях и резистентность меланомы к обычным методам лечения объясняют высокую летальность при меланоме. Лекарственная устойчивость остается одной из основных причин клинического прогрессирования метастатической меланомы.

Цель исследования – изучение вовлечения васкулогенной мимикрии (ВМ) в становление лекарственной резистентности при меланоме и выяснение способности производного индолокарбазолов ЛХС-1269 блокировать ВМ на модельной клеточной линии меланомы, резистентной к ДНК-повреждающим агентам.

Материалы и методы. В работе использовали клеточную линию метастатической меланомы человека mel II, противоопухолевые препараты аранозу, стрептозотоцин, цисплатин (ЦП) и новое соединение – производное индо-

локарбазолов ЛХС-1269. Применяли следующие методы: 2D- и 3D-культивирование клеток, фенотипирование клеток в реакции прямой иммунофлуоресценции, детекцию апоптотических клеток с помощью двойного окрашивания Annexin-V-FITS/PI и определение активной каспазы-3 проточной цитометрией.

Результаты. Методом искусственной стимуляции апоптоза противоопухолевым препаратом из группы производных нитрозомочевины аранозой создана резистентная модельная клеточная линия меланомы mel Il. Исследование фенотипа резистентных к аранозе клеток меланомы mel Il выявило снижение в 3 раза экспрессии CD63, в 86 раз CD54 и в 460 раз CD117, что указывало на переход клеток в фазу агрессивного роста. Клетки mel Il оказались резистентны также к другим противоопухолевым препаратам – стрептозотоцину и ЦП. В отличие от клеток mel Il дикого типа, резистентные клетки mel Il формировали на матригеле сосудистоподобные структуры, что является *in vitro* тестом ВМ. Соединение ЛХС-1269 блокировало ВМ на резистентных клетках mel Il. При исследовании индукции апоптотической гибели соединением ЛХС-1269 в комбинации с противоопухолевыми препаратами аранозой или ЦП показано, что на резистентной линии mel Il соединение ЛХС-1269 восстанавливало чувствительность клеток к аранозе и ЦП.

Заключение. В работе впервые обсуждается роль блокирования ВМ как движущей силы восстановления чувствительности резистентных клеток меланомы к ДНК-повреждающим агентам. Полученные нами результаты позволяют поднять вопрос о существовании нового терапевтического подхода в лечении меланомы.

Д.П. Веевник[1], А.С. Федулов[2], Т.Л. Юркштович[3], Н.К. Юркштович[3]

КОМПЛЕКСНОЕ ЛЕЧЕНИЕ НЕЙРОЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА GRADE II–IV С ПРИМЕНЕНИЕМ ИНТРАОПЕРАЦИОННОЙ ЛОКАЛЬНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ ТЕМОДЕКСОМ

[1]УЗ «ГКБ скорой медицинской помощи», Минск, Республика Беларусь;
[2]УО БГМУ, Минск, Республика Беларусь;
[3]УНП РУП «Унитехпром БГУ», Минск, Республика Беларусь

Введение. Несмотря на постоянное совершенствование хирургии удаления опухолей головного мозга, при использовании хирургического этапа – максимально возможного удаления объемного образования с минимальным повреждением окружающей ткани мозга и с последующим химио/радиотерапевтическим воздействием на резидуальную часть опухоли, сохраняются низкая выживаемость, высокая смертность и инвалидизация пациентов, особенно при опухолях высокой степени злокачественности, в том числе среди социально активной популяции. Сказанное делает очевидным необходимость совершенствования существующих и разработки новых технологий лечения пациентов данной группы.

Цель исследования – повысить эффективность комбинированного лечения пациентов с нейроэпителиальными опухолями головного мозга супратенториальной локализации путем применения интраоперационной локальной химиотерапии (ХТ).

Материалы и методы. Открытое, контролируемое, сравнительное, проспективное, рандомизированное исследование с параллельными группами. Отследить конечные точки исследования удалось у 128 пациентов с внутримозговыми опухолями: у 39 в основной и у 89 в контрольной группе. Для локальной ХТ использовали препарат темодекс.

Результаты. Медиана выживаемости пациентов с опухолями Grade III–IV супратенториальной локализации на фоне интраоперационной химиолучевой терапии увеличилась при радикальном удалении опухоли с 44,6 (11,15 мес) до 78,6 нед (19,65 мес) (WW = 12,6; $p = 0{,}0001$). У пациентов с высокозлокачественными опухолями Grade III–IV при применении химиолучевой терапии безрецидивный период составил 59,0 нед (14,75 мес), тогда как в контроле он был 34,0 нед (8,5 мес) (WW = 26,0; $p = 0{,}0001$). При этом медиана выживаемости без прогрессирования у пациентов основной группы с наиболее злокачественными опухолями Grade IV достигала 56,0 нед (14.0 мес), а в контрольной – 31,5 (14,0–100,0) нед (7,875 мес) (WW = 26,2; $p = 0{,}0001$). Одногодичная кумулятивная доля выживших пациентов с опухолями Grade III–IV в основной группе составила 72,7 %, в контрольной – 20,8 % (WW = 20,6; $p = 0{,}0001$).

Заключение. Проведенное исследование противоопухолевой активности препарата темодекс в качестве средства для локальной ХТ опухолей Grade II–IV в комбинации с адъювантной химиолучевой терапией указывают на достижение при этом вполне сопоставимых с препаратами глиадел и цисплацел результатов в части повышения общей выживаемости и продолжительности безрецидивного периода.

М.С. Воронцова[1], Н.Б. Морозова[1], Т.А. Кармакова[1], А.А. Панкратов[1], Т.Н. Андреева[1], Е.А. Плотникова[1], Р.И. Якубовская[1], О.А. Сморызанова[2], В.М. Петриев[2], В.Г. Скворцов[2], А.А. Розенкранц[3, 4], Т.А. Сластникова[3], Т.Н. Лупанова[3], А.С. Соболев[3, 4]

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ РАДИОКОНЪЮГАТА НА ОСНОВЕ МОДУЛЬНОГО НАНОТРАНСПОРТЕРА, СОДЕРЖАЩЕГО ЛИГАНД – ЭПИДЕРМАЛЬНЫЙ ФАКТОР РОСТА

[1]МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ НМИРЦ Минздрава России, Москва;
[2]МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ НМИРЦ Минздрава России, Обнинск;
[3]ИБГ РАН, Москва;
[4]Биологический факультет ФГАОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва

Введение. Модульный нанотранспортер (МНТ) – рекомбинантный белок, состоящий из различных модулей, которые обеспечивают возможность присоединения радионуклида, связывание конструкции с поверхностными рецепторами клеток и доставку радиоконъюгата в ядро клетки. Функциональная активность МНТ позволяет сосредоточить повреждающее действие радиации в ткани-мишени.

Цель исследования – медико-биологическое изучение МНТ, содержащего в качестве лигандного модуля эпидермального фактора роста (ЭФР) человека, а в качестве терапевтического радионуклида – эмиттер электронов Оже, индий-111 (^{111}In).

Материалы и методы. Исследование общей токсичности выполнено на мышах и крысах, оценка аллергизирующего действия – на морских свинках, согласно существующим методическим рекомендациям. Противоопухолевая эффективность МНТ-ЭФР-^{111}In (в дозах 63, 125 и 250 мкКи) исследована на модели ЭФР-положительного подкожного ксенографта рака мочевого пузыря человека (культура клеток EJ) у мышей nude. Фармакокинетика и биораспределение МНТ-ЭФР-^{111}In изучены у интактных животных и у мышей-опухоленосителей *ex vivo* методом радиометрического анализа.

Результаты. Субстанция МНТ-ЭФР-In (природный изотоп) в эквитерапевтической дозе (ЭТД) и 10ЭТД при внутрибрюшинном (в/б) и конъюнктивальном введении не вызывает аллергических реакций. По результатам изучения хронической токсичности в дозах 5ЭТД и 10ЭТД МНТ-ЭФР и МНТ-ЭФР-In являются малотоксичными. Мыши удовлетворительно переносят однократное в/б введение МНТ-ЭФР-^{111}In в дозах 25–250 мкКи на мышь. При подкожном введении интактным животным, а также при интратуморальном (и/т) введении мышам *nude* с опухолью EJ МНТ-ЭФР-^{111}In характеризуется низкой системной абсорбцией и удерживается в месте введения (80–45 % от введенной дозы в интервале 5 мин – 2 сут), преимущественно элиминируется из организма выделительной системой почек. Отношение концентрации радиоактивности в опухоли к данному показателю в органах/тканях мышей на 2-е сутки после и/т введения МНТ-ЭФР-^{111}In составляет 34 (почка), 170 (печень), 460 (кость, селезенка), > 1000 (кровь и другие органы). При однократном и/т введении МНТ-ЭФР-^{111}In в дозе 250 мкКи торможение роста ксенографта опухоли EJ по сравнению с ЭДТА-^{111}In составляет 70–80 % на протяжении 16–33 сут после начала лечения.

Заключение. МНТ-ЭФР-^{111}In может служить основой для разработки радиофармпрепарата, предназначенного для местного лечения ЭФР-положительных злокачественных опухолей человека.

Ю.С. Гаврилова, Н.П. Бгатова, А.П. Лыков, А.О. Соловьева, Ю.И. Бородин, В.И. Коненков

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ЭФФЕКТЫ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ ЛИТИЯ

НИИКЭЛ, Новосибирск

Введение. Одной из актуальных проблем современной биологии и медицины является проблема подавления опухолевого роста и метастазирования. Для ее решения разрабатываются различные подходы и медицинские технологии, в частности с использованием наноразмерных структур. Известно, что соединения лития могут оказывать влияние на сигнальные пути канцерогенеза и регуляцию клеточного цикла. В последнее время появляются работы, показывающие эффективность использования лития для подавления опухолевого роста.

Цель исследования – выявление противоопухолевых эффектов различных форм солей лития.

Материалы и методы. Эксперименты проводили *in vitro* на культуре клеток гепатокарциномы-29 (ГК-29) и *in vivo* при инокуляции клеток ГК-29 в область бедра экспериментальным животным – мышам-самцам линии СВА. В качестве агентов, запускающих гибель опухолевых клеток, использовали цитрат и карбонат лития и их наноразмерные формы (10 нм). Определяли жизнеспособность клеток ГК-29 (МТТ-тест) при их культивировании с различными дозами и формами лития, распределение клеток ГК-29 по фазам клеточного цикла (проточная цитофлуориметрия). Проводили фенотипирование клеток ГК-29 на основании морфологических критериев (световая, электронная микроскопия) для выявления клеток-мишеней различных форм лития, а также определяли формы клеточной гибели ГК-29. В эксперименте *in vivo* определяли продолжительность жизни экспериментальных животных, размер опухоли при введении различных форм солей лития и цитостатика, проводили иммуногистохимическое выявление молекулярных маркеров пролиферации, апоптоза, сосудистого русла опухоли.

Результаты. Выявлено дозозависимое снижение жизнеспособности клеток ГК-29 при культивировании с исходными и наноразмерными формами карбоната и цитрата лития. На основании морфологических критериев 5 стадий дифференцировки клеток ГК-29 были определены клетки-мишени солей лития. Показано, что клетками-мишенями цитрата лития исходной и наноразмерной форм являются пролиферирующие клетки I и II стадий дифференцировки, а карбоната лития наноразмерной формы – дифференцированные клетки IV и V стадий дифференцировки. Отмечено увеличение продолжительности жизни животных – носителей опухоли при введении различных форм лития, некроз и апоптоз опухолевых клеток, увеличение численности нейтрофилов и макрофагов в опухоли, достоверное уменьшение объемной плотности сосудистой сети.

Заключение. Наноразмерные формы солей лития оказывают более выраженные противоопухолевые эффекты в меньших концентрациях, чем их исходные формы, что дает возможность более эффективного использования низких доз препаратов.

Д.Р. Гафурова[1], И.В. Гусев[1], М.А. Щедрина[2], Е.А. Маслюкова[3], Е.М. Егорова[4], М.А. Коровина[1], Н.Д. Олтаржевская[1], Г.Е. Кричевский[1]

ДЕПО-МАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ АЛЬГИНАТА НАТРИЯ С НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЕБРА ДЛЯ ТЕРАПИИ СОПРОВОЖДЕНИЯ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

[1]ООО «КОЛЕТЕКС», Москва;
[2]ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва;
[3]ФГБУ РНЦРХТ Минздрава России, Санкт-Петербург;
[4]ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», Москва

Введение. Для наиболее эффективного лечения различных форм рака молочной железы (РМЖ) необходимо соблюдать оптимальный временной интервал между курсами лучевой терапии (ЛТ). В связи с тем, что в 35–40 % случаев встречаются нежелательные осложнения, в том числе послеоперационные (покраснения, отек, боль, серома, гематома, язвы и болевой синдром), необходимо разработать программу сопроводительной терапии для нормализации мягких тканей, при этом предусматривая минимальную системную медикаментозную нагрузку у указанного

(ослабленного) контингента больных. Поэтому актуальна разработка материалов для местного направленного подведения лекарств к очагу поражения.

Цель исследования – разработать гидрогелевые депоматериалы на основе природного биополимера альгината натрия, обладающего гемостатическими, восстановительными свойствами, с наночастицами серебра (НЧС), полученными биохимическим способом, для лечения и предотвращения лучевых реакций.

Материалы и методы. Созданный гидрогелевый материал (ГМ) испытывался на лабораторных крысах линии Wistar, у которых хирургическим способом с соблюдением условий асептики однотипно формировали обширный дефект мягких тканей площадью 7,0 см^2. Затем рану заполняли разработанным стерильным ГМ. Контроль осуществлялся на 7-е, 14-е и 28-е сутки, также были успешно проведены токсикологические и технические испытания созданного материала. После получения разрешения этического комитета РНЦРХТ проводились клинические испытания на 3 пациентах с РМЖ, осложненным опухолевой язвой, в комбинации с ЛТ, у 2 – для заполнения полости после эвакуации лимфоцеле с последующей ЛТ, у 1 – после постановки эспандера с целью снижения воспалительных реакций.

Результаты. При патологогистологическом исследовании мягких тканей у крыс при применении ГМ наблюдаются признаки стимулированной репаративной регенерации. Инкорпорирование в альгинат натрия ионов серебра, обладающих антибактериальной активностью, снижает уровень инфицирования раны и синергично активизирует репаративный процесс. ГМ полностью заполняет объемный дефект, его введение удобно и безболезненно. При использовании созданного ГМ для снятия лучевых реакций III степени при лечении РМЖ через 7 дней был заметен положительный результат по ускорению заживления. После применения геля с НЧС при воспалительной реакции после постановки эспандера (ранее была проведена ЛТ) через 3 дня отмечалось прекращение воспаления, боль купировалась, что позволило в ускоренный срок снять швы у больных.

Заключение. Проведенные испытания демонстрируют целесообразность использования ГМ на основе альгината натрия с НЧС в качестве сопроводительного лечения при ЛТ.

Работа проводилась в рамках выполнения гранта РФФИ № 15-29-04847.

Р.Г. Геворгиз[1], С.Н. Железнова[1], Ю.В. Зозуля[2], И.П. Уваров[2], А.С. Лелеков[1], М.В. Нехорошев[1]

ПРОМЫШЛЕННАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ПРОИЗВОДСТВА ФУКОКСАНТИНА НА ОСНОВЕ ИНТЕНСИВНОЙ КУЛЬТУРЫ МОРСКОЙ ДИАТОМЕИ *CYLINDROTHECA CLOSTERIUM (*EHRENBERG) REIMANN & LEWIN В ГАЗО-ВИХРЕВОМ ФОТОБИОРЕАКТОРЕ

[1]ФГБУН «ИМБИ им. А.О. Ковалевского», Севастополь;
[2]ООО «МикроБиоТехнология», Новосибирск

Введение. Фукоксантин (Фк) – один из наиболее активных каротиноидов морских организмов, на основе которого производят ряд противоопухолевых препаратов. Экспериментально доказана его высокая активность при ингибировании роста опухолевых клеток при раке предстательной железы, кожи, толстой кишки, лейкемии. Основным сырьем для промышленного получения Фк являются бурые водоросли. Однако низкая концентрация Фк и его неустойчивость при хранении сырья приводит к высокой себестоимости. Одним из путей снижения себестоимости является использование морской диатомеи *Cylindrotheca closterium*. Содержание Фк в ее биомассе достигает 2 % от сухой массы.

Цель исследования – разработка промышленной технологии производства Фк на основе интенсивной культуры *C. closterium* в газо-вихревом фотобиореакторе.

Материалы и методы. Объект исследования – бентосно-планктонная диатомовая водоросль *C. closterium* (Ehrenberg) Reimann & Lewin. Для выращивания культуры использовали газо-вихревую систему культивирования. Объем суспензии – 600 л, освещенность культуры – 7,1 клк. Содержание Фк в *C. closterium* определяли методом тонкослойной хроматографии. Для идентификации Фк получали в кристаллической форме и затем характеризовали методами масс-спектрометрии и спектроскопии ядерного магнитного резонанса.

Результаты. Среди множества конструкций фотобиореакторов особое место занимает разработка новосибирских ученых – газо-вихревая система культивирования (вихревой аквареактор), которая характеризуется безградиентным перемешиванием суспензии, отсутствием «мертвых» зон по всему объему культуры, практически отсутствием эффекта масштабирования при больших объемах суспензии, минимальными затратами энергии для перемешивания, высокой скоростью массообмена, а также простотой конструкции. Использование газо-вихревой системы культивирования позволило получить максимальную продуктивность культуры *C. closterium* до 1,2 г/л или 95 г/(кв. м × сут), что в 3–4 раза превышает показатели других систем культивирования. Максимальная плотность культуры за 18 дней эксперимента достигла 6 г/л сухой биомассы, при этом содержание Фк в биомассе составляло 1 % сухой массы. Таким образом, за время эксперимента было получено 3,6 кг биомассы и 30 г Фк.

Заключение. Результаты проведенных экспериментов показали возможность организации масштабного выращивания *C. closterium* в газо-вихревой системе культивирования и получения Фк с низкой себестоимостью в промышленных масштабах.

В.П. Герасименя[1], С.В. Захаров[1], А.В. Трезвова[1], Т.И. Милевич[2], С.Н. Сушко[2]

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ПИЩЕВОГО КОНЦЕНТРАТА МИЦЕЛИЯ ВЕШЕНКИ ОБЫКНОВЕННОЙ, ОБОГАЩЕННОГО ПРИРОДНЫМИ АНТИОКСИДАНТАМИ, НА МОДЕЛИ АДЕНОМ У МЫШЕЙ

[1]ООО «ИНБИОФАРМ», Москва;
[2]ГНУ ИР НАН Беларуси, Гомель, Республика Беларусь

Введение. Пищевой концентрат мицелия вешенки обыкновенной (ПКМВ), обогащенный природными антиоксидантами, изготовлен путем сухого смешивания пищевого порошка мицелия вешенки обыкновенной (штамм 1137, ВКПМ F-819), аскорбиновой кислоты кристаллической пищевой (Е300) и дигидрокверцетина (ТУ 9190-036-87552538-15).

В результате проведенных испытаний ПКМВ установлено, что водный экстракт сухой нативной биомассы ПКМВ обладает высокими сорбционными свойствами по отношению к радионуклидам и тяжелым металлам, обеспечивает коррекцию пострадиационных нарушений в организме с восстановлением иммунитета. Очевидна актуальность изучения противоопухолевых свойств нового препарата ПКМВ, обогащенного природными антиоксидантами.

Цель исследования – оценить противоопухолевую активность водного экстракта ПКМВ, обогащенного природными антиоксидантами, в условиях образования индуцированных уретаном аденом в легких у мышей.

Материалы и методы. Исследования выполнены на лабораторных мышах линии Af. Высокораковая линия Af характеризуется тем, что в процессе развития у интактных мышей возникают спонтанные опухоли легких, число которых увеличивается под действием мутагенных и канцерогенных факторов. Оценка противоопухолевых свойств ПКМВ выполнена при стандартизированном действии химического канцерогена уретана. Были исследованы 3 дозы сухой биомассы ПКМВ: 500, 1000 и 1500 мг/кг массы животного по следующей схеме: мыши обоего пола получали ПКМВ в течение 15 сут, затем животным внутрибрюшинно вводили уретан (10 % раствор, 1 г/кг массы тела) и поступление ПКМВ продолжалось еще 15 сут. Животные без введения уретана после поступления ПКМВ в течение 15 сут, интервала в 1 мес, в последующие 15 сут получали с питьем ПКМВ. Выведение животных из опыта выполнено через 16 нед от его начала. Опухолевый эффект в легких мышей оценивали с учетом частоты возникновения опухолей (% мышей с аденомами) и соотношения аденома/мышь.

Результаты. Введение уретана интактным животным статистически достоверно повышает число аденом в легких. При поступлении ПКМВ с питьем в исследуемых концентрациях наблюдается выраженная тенденция к торможению опухолевого процесса в легких мышей обоего пола. При введении химического канцерогена на фоне поступления ПКМВ максимально эффективными явились концентрации ПКМВ для самок 500 и 1000 мг/кг, для самцов – 1500 мг/кг, повышающими выживаемость животных до 100 %. При этом статистически достоверное снижение числа аденом по сравнению с группой уретановой интоксикации установлено в группе употребления ПКМВ в концентрации 500 мг/кг с уретаном.

Заключение. Исследованные концентрации ПКМВ снижают спонтанный уровень аденом в легких мышей.

А.К. Голенков[1], Е.В. Трифонова[1], Т.А. Митина[1], О.В. Москалец[1], К.А. Белоусов[1], Е.В. Катаева[1], А.В. Кедров[1], И.Н. Когарко[2], Б.С. Когарко[2], В.В. Яздовский[1], А.В. Караулов[3]

ДИАГНОСТИКА ВНУТРИСПИНАЛЬНОГО ОПУХОЛЕВОГО РОСТА У ПАЦИЕНТОВ С МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ, ОСЛОЖНЕННОЙ МИЕЛОРАДИКУЛОПАТИЕЙ, НА ОСНОВАНИИ АНАЛИЗА СВОБОДНЫХ ЛЕГКИХ ЦЕПЕЙ В СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ

[1]ГБУЗ МО «МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского», Москва; [2]ФГБУН «ИХФ им. Н.Н. Семенова РАН», Москва; [3]ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

Цель исследования – сформулировать концепцию интратекального опухолевого роста при множественной миеломе (ММ), осложненной миелорадикулопатией, на основании модели градиентов концентраций свободных легких цепей (СЛК) сыворотки крови (СК) и СЛК спинномозговой жидкости (СМЖ).

Материалы и методы. Исследовано 12 больных ММ, осложненной миелорадикулопатией. Парапротеин (PIg) G определен у 6 пациентов (к – у 3; λ – у 3), PIg M/к – у 1, изолированная Bj форма – у 5 (λ-5). Впервые выявленная ММ была у 5, резистентная – у 4 больных, поддерживающее лечение получали 3 пациента. Всем больным проводилась химиотерапия, включающая бортезомиб, мелфалан (циклофосфан) и преднизолон (дексаметазон); леналидомид назначали при возникновении резистентности. Определение СЛЦ СК и СЛЦ СМЖ k-и λ-типов проводили иммуноферментным методом на спектрофотометре (Kenstar, США).

Результаты. При анализе концентраций к-СЛЦ СК средние показатели составили 15,9 ± 4,0 мг/л, что превышало значения у здоровых лиц (7,3 мг/л). Разбросы концентраций относительно средней величины составили 6,7 ± 2,0 и 28,9 ± 7,0 мг/л. При этом среднее значение к-СЛЦ СМЖ составило 0,03 ± 0,01 мг/л с разбросом 0,02 ± 0,05 и 0,05 ± 0,02 мг/л. Средняя концентрация λ-СЛЦ СК составила 54,3 ± 16,4 мг/л (значения у здоровых лиц – 12,7 мг/л), с разбросом 12,6 и 98,7 мг/л. Концентрация λ-СЛЦ СМЖ составила 0,50 ± 0,18 мг/л с разбросом 0,17 и 0,83 мг/л. Для определения градиента концентраций СЛЦ СК и СМЖ вначале определялись показатели нарастания концентрации для СК и для СМЖ раздельно для к-и λ-СЛЦ, затем вычислялись отношения показателей СК/СМЖ, которые составили для к-СЛЦ – 1,7, для λ-СЛЦ-1,6. Сопоставление данной фильтрационной модели с показателями каждого больного показало, что у 6 из 12 результаты были ниже 1,7 или 1,6, что свидетельствовало об интратекальном росте. При этом опухолевый цитоз в СМЖ был выявлен в 1 наблюдении.

Заключение. Полученные результаты служат основанием для проведения интратекальной химиотерапии при ММ, осложненной опухолевой миелорадикулопатией.

И.С. Голубева, Н.П. Яворская, В.А. Еремина, Н.И. Тихонова, Т.Д. Миникер, Л.В. Эктова, М.В. Дмитриева

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ГЛИКОЗИДОВ ИНДОЛОКАРБАЗОЛОВ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Гликозиды индолокарбазолов обладают широким спектром биологического действия: противовирусным, антибактериальным, противовоспалительным, иммуномодулирующим и противоопухолевым.

Цель исследования – поиск новых высокоэффективных противоопухолевых соединений с широким спектром действия среди гликозидов индолокарбазолов.

Материалы и методы. Изучение специфической активности гликозидов индолокарбазолов с различными заместителями по амидному атому азота проводилось на перевиваемых асцитных моделях опухолей (Эрлиха, лимфолейкозе

Р388) и солидных (эпидермоидной карциноме легкого Льюис (Lewis lung carcinoma, LLC), меланоме В16, раке шейки матки (РШМ) 5, раке толстого кишечника АКАТОЛ и аденокарциноме молочной железы Са755). Критериями эффективности служили: для асцитных моделей – увеличение продолжительности жизни (УПЖ, %), для солидных моделей – торможение роста опухолей (ТРО, %) опытных мышей по сравнению с группой контроля. Соединения вводили внутрибрюшинно с интервалом 24 ч в течение 5 дней.

Результаты. Противоопухолевая активность всех изученных соединений (УПЖ) при опухоли Эрлиха варьировала от 104 до 497 %, при лимфолейкозе Р388 – от 51 до 203 %. Из 14 изученных соединений на солидных опухолях наиболее значимые результаты проявили 7. Наиболее чувствительной к данным соединениям оказалась модель РШМ 5. Для ЛХС-1208 – ТРО по окончании лечения 52 % и сохраняется на уровне 49 % до 22-го дня; для ЛХС-1284 – ТРО от 67 % и до 50 % на 26-й день; для ЛХС-1265 – ТРО от 58 до 53 % на 16-й день; для ЛХС-1272 – ТРО от 90 до 58 % на 26-й день. На остальных солидных моделях данные соединения не проявили активности, отвечающей критериям отбора. Для ЛХС-983 при РШМ 5 – ТРО от 53 до 56 % на 21-й день и при АКАТОЛ – ТРО от 63 до 59 % на 22-й день. Для ЛХС-1215 при Са755 – ТРО от 85 до 67 % на 16-й день. ЛХС-1269 показал самую высокую противоопухолевую активность на асцитных и 5 солидных моделях: при LLC – ТРО от 57–75 до 54–62 % на 22–27-й день; при В16 – ТРО от 52–84 до 50–62 % на 22–27-й день; при РШМ5 – ТРО от 80–90 до 50–70 % на 15–19-й день; при АКАТОЛ – ТРО от 90 до 62 % до 26-го дня; при Са755 – ТРО от 60–86 до 61–68 % на 15–19-й день.

Заключение. Из 14 изученных соединений ЛХС-1269 отобран для дальнейшей отработки режимов и путей введения.

С.А. Гончарова, И.К. Якущенко, Т.А. Раевская, Т.Н. Якущенко

ЭФФЕКТИВНОСТЬ НОВЫХ ВОДОРАСТВОРИМЫХ АНАЛОГОВ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА ПРОДИМИН НА ЛЕКАРСТВЕННО-УСТОЙЧИВЫХ ОПУХОЛЯХ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область

Введение. Противолейкозный препарат Продимин давно применяется в клинике и является активным, в том числе на опухолях, резистентных к другим противоопухолевым препаратам. Однако он имеет существенный недостаток – он нерастворим в воде, что ограничивает способы введения его в организм.

Цель исследования – разработка и синтез 2 новых водорастворимых аналогов продимина и исследование их эффективности на ряде экспериментальных моделей *in vivo*.

Материалы и методы. Подтверждение структуры продимина и его водорастворимых аналогов проводилось методами спектроскопии ядерного магнитного резонанса ^{1}H, инфракрасной и масс-спектроскопии. Исследовали токсичность продимина и его аналогов при однократном их введении и определяли их терапевтические дозы. Исследование эффективности полученных соединений и препарата продимин на лейкозе Р388 мышей и на ряде его лекарственно-устойчивых штаммов: Р388/руб, Р388/вкр, Р388/цф, Р388/cPt, резистеных к рубомицину (руб), винкристину (вкр), циклофосфану (цф) и цисплатину (cPt) соответственно. Штаммы Р388/руб и Р388/вкр обладают генотипом и фенотипом множественной лекарственной утойчивости (МЛУ). Критерием эффективности служил общепринятый показатель ILS (the increasing of life span). В каждой экспериментальной группе было по 6–8 животных.

Результаты. Показано, что 1 из 2 вновь синтезированных нами соединений (димебромин) было значительно более эффективным, чем продимин, на обоих МЛУ-штаммах. Так, на Р388/руб, при 5-кратном введении обоих соединений с интервалами 48 ч эффективность у димебромина на 85 % превышала таковую продимина. При 4-кратном введении с интервалом в 3 сут эффективность димебромина была выше таковой у продимина на 126 %. При ежедневном введении в течение 9 сут после перевивки эффективность обоих соединений была сравнимой и достаточно высокой (176 и 209 % соответственно). На Р388/вкр при введении на 1–9-е сут соединение димебромин было почти в 10 раз эффективнее продимина. При введении через 1, 5 и 9 сут после перевивки опухолей активность димебромина более чем в 3 раза превышала таковую продимина. Штаммы Р388/цф и Р388/cPt были мало чувствительными к обоим соединениям. Второй синтезированный нами аналог продимина (димехлорин) эффективности не проявил ни на одном штамме.

Заключение. Таким образом, синтезированное нами впервые соединение димебромин на двух МЛУ-штаммах было значительно более эффективным, чем противоопухолевый препарат продимин.

С.А. Гончарова, И.В. Выстороп, Т.А. Раевская, Н.П. Коновалова

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ЛЕКАРСТВЕННО-УСТОЙЧИВЫХ ШТАММОВ ЛЕЙКОЗА Р388 МЫШЕЙ К ЦИКЛИЧЕСКОЙ ГИДРОКСАМОВОЙ КИСЛОТЕ СНА-5

ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область

Введение. Циклические гидроксамовые кислоты (ЦГК) являются ингибиторами фермента гистондеацетилазы (HDAC), который участвует в ремоделировании гистонов хроматина, необходимого для осуществления транскрипции дезоксирибонуклеиновой кислоты. HDAC может взаимодействовать и с рядом негистоновых белков (p53, NF-κB, E2F) и др. Сверхэкспрессия HDAC характерна для многих опухолей. Лекарственная устойчивость (ЛУ) и множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) опухолей являются одними из основных онкологических проблем. Онкология не знает ни одного препарата, включая новейшие и таргетные, к которому не развивалаь бы ЛУ или МЛУ.

Цель исследования – синтезировать ЦГК имидазолидинового ряда СНА-5 и исследовать ее эффективность на экспериментальных опухолях *in vivo*.

Материалы и методы. Исследовали токсичность СНА-5 при однократном введении мышам и определяли его терапевтическую дозу. Эффективность СНА-5 изучали на лейкозе Р388 мышей и на ряде его ЛУ-штаммов: Р388/руб, Р388/вкр, Р388/цф, Р388/cPt, резистентных к рубомицину

(руб), винкристину (вкр), циклофосфану (цф) и цисплатину (cPt) соответственно. Штаммы P388/руб и P388/вкр обладают генотипом и фенотипом МЛУ. Критерием эффективности служил общепринятый показатель ILS (the increasing of life span).

Результаты. Показано, что СНА-5 на 2 МЛУ-штаммах проявила исключительно высокую эффективность. На штамме P388/руб, по результатам двух независимых экспериментов, при монотерапии СНА-5 64 % животных выживало, средняя продолжительность жизни (СПЖ) леченых животных превышала 50 сут, а показатель ILS составил 424 %. Комбинированная терапия СНА-5 с cPt на этом штамме также была высокоэффективной: 50 % мышей выживало, показатель ILS составил 394 %. На P388/вкр при сочетании СНА-5 с цф ILS был 300 %, а СПЖ леченых животных была более 50 сут. В опытах по комбинированной терапии доза цф была ниже его терапевтической в 5 раз, а cPt – в 15 раз. Известна высокая токсичность этих препаратов, поэтому возможность их применения в уменьшенных дозах с более высоким эффектом позволит увеличить продолжительность лечения с бóльшим терапевтическим выходом. Штаммы P388/цф и P388/cPt оказались нечувствительными и к монотерапии СНА-5, и к комбинированной терапии с участием СНА-5.

Заключение. Таким образом, показана высокая эффективность ЦГК СНА-5 на экспериментальных МЛУ-опухолях *in vivo*.

Г.А. Гордина, О.И. Тарасова,
И.Ю. Кубасова, А.В. Киселев, А.Е. Пастушенко

ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ ФГБУ «РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА» МИНЗДРАВА РОССИИ В 2015 Г.

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Из 53 научных тем, запланированных в 2015 г., 10 (19 %) признаны охраноспособными. При этом доля охраноспособных тем в НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей составила 35 %, в НИИ канцерогенеза – 17 % и в НИИ клинической онкологии – 6 %.

За этот же период из 64 тем аннотаций диссертаций охраноспособными оказались 12 (19 %). На соискание ученой степени доктора наук охраноспособные темы составили 43 %, а на соискание степени кандидата наук – 12 %. К концу 2015 г. поддерживались 66 патентов на изобретения: объектами 21 патента являлись химические соединения и композиции, обладающие противоопухолевой активностью; 21 патента – способы лечения и диагностики злокачественных опухолей; 18 патентов – клеточные линии меланомы для создания противоопухолевых вакцин; 2 патентов – устройство и 2 патентов – штаммы опухолевых клеток. Из числа поддерживаемых патентов 8 признаны перспективными и награждены дипломами Роспатента в номинации «100 лучших изобретений России».

Досрочно прекращено поддержание 4 патентов ввиду невозможного использования их в коммерческих целях.

За 2015 г. в отдел патентной и изобретательской работы РОНЦ им. Н.Н. Блохина научными сотрудниками было подано 20 заявок на изобретения. Из их числа 12 заявок признаны не соответствующими критериям «изобретательский уровень» или «новизна».

В Роспатент подготовлены и поданы 6 заявок на изобретения, 3 из них выполнены по госконтракту. Объектами изобретений были: способ лечения, устройство, штамм, противоопухолевое средство.

За этот период получены 9 патентов на изобретения и 1 свидетельство на программу для ЭВМ. Объектами изобретений 3 патентов стали: способ диагностики, способ профилактики и способ лечения злокачественных опухолей; 4 патентов – противоопухолевое средство; 2 патентов – штамм опухолевых клеток. Два патента явились результатом совместных исследований с другими научными организациями – Красноярским государственным педагогическим университетом им. В.П. Астафьева и Институтом органического синтеза им. И.Я. Постовского Уральского отделения РАН.

В 2015 г. шесть клеточных линий меланомы (mel Si, mel Me, mel Kor, mel Mtp, mel Ibr, mel Gus), полученных в РОНЦ им. Н.Н. Блохина и получивших патенты, по контракту были реализованы в НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова.

В целях стимулирования изобретательской деятельности авторы 9 патентов изобретений и свидетельства на программу ЭВМ были отмечены денежными премиями.

А.А. Горчаков, С.В. Кулемзин, О.Ю. Волкова,
К.О. Баранов, С.В. Гусельников, А.М. Сократян,
В.В. Кузнецова, А.В. Таранин

ХИМЕРНЫЕ АНТИГЕННЫЕ РЕЦЕПТОРЫ ДЛЯ АДАПТИВНОЙ Т-КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ

ФГБУН ИМКБ СО РАН, Новосибирск

Введение. Впечатляющие результаты терапии онкогематологических заболеваний с использованием аутологичных CAR Т-клеток (клеток с поверхностной экспрессией химерного антигенного рецептора) стимулируют активное распространение этой технологии для борьбы и с другими типами рака. Поскольку эффективность и безопасность адаптивной Т-клеточной терапии критически зависят от выбора белка-мишени, дизайн антигенраспознающей части рецептора является одной из наиболее приоритетных задач.

Цель исследования – изучение функциональности CAR с различным модульным составом и специфичностью антигенраспознающей части.

Материалы и методы. В работе использована панель лентивирусных конструкций, кодирующих CAR против 6 опухолеассоциированных белков человека – PSCA, PSMA, CD20, VEGFR2, CEA, IGF-1R, причем помимо общепринятых scFv-CAR, были получены принципиально новые варианты, названные нами Fn-CAR. Их антигенраспознающая часть основана на диверсифицированном домене Fn3-типа фибронектина человека (Fn3), за счет чего могут достигаться высокая аффинность связывания, низкая иммуногенность, стабильность и возможность комбинирования нескольких Fn-доменов в мультимодульные полиспецифичные структуры. Функциональность конструкций в контексте CAR Т-клеток была протестирована с помощью проточной цитометрии на моделях *in vitro*.

Результаты. Обнаружено, что полученные scFv- и Fn-CAR Т-клетки специфически активируются в присутствии целевых клеток-мишеней. Показано, что активационная способность CAR зависит от использованных промоторных, шарнирных и сигнальных составляющих. Создана платформа для оценки цитотоксичности CAR Т-клеток *in vitro* и *in vivo* и для создания биспецифических CAR.

Заключение. Проведенный анализ свидетельствует о том, что возможности дизайна CAR могут быть значительно расширены за счет использования альтернативных антигенраспознающих модулей, а также их комбинаций друг с другом и с scFv. Это должно обеспечить бóльшую гибкость CAR-платформы, широту охвата белков-мишеней, а также возможность настройки аффинности и селективности CAR.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы фундаментальных научных исследований по теме 0310-2015-0006 и гранта РФФИ № 15-04-05749.

Е.Ю. Григорьева[1], С.А. Цуркан[2], Г.Б. Смирнова[1], Ю.А. Борисова[1], Е.М. Трещалина[1]

ОСОБЕННОСТИ ФАРМАКОКИНЕТИКИ АФП-СОДЕРЖАЩЕГО КОМПЛЕКСА АИМПИЛА ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ

[1]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва; [2]ООО «ФНЦ «ФармАксесс», Москва

Введение. Потенциальный пероральный таргетный препарат Аимпила представляет собой нековалентный комплекс, состоящий из индуктора апоптоза и транспортного белка α-фетопротеина (АФП). В эксперименте Аимпила активен на подкожных ксенографтах опухолей человека с рецепторами АФП, растущих у иммунодефицитных гибридных мышей линии Balb/c nude. Поэтому для изучения элементов фармакинетики использованы близкородственные мыши Balb/c nude$^+$.

Цель исследования – получение данных по распределению и выведению меченого ^{125}I-Аимпила после однократного перорального введения мышам Balb/c nude$^+$.

Материалы и методы. Изучение проводили на здоровых мышах обоего пола после однократного введения в желудок ^{125}I-Аимпила в разовой дозе 20 мг/кг (радиоактивность 32,0–34,6 МБк/кг для самок и самцов соответственно). В контрольной группе животные получали стерильную воду для инъекций. Распределение ^{125}I-Аимпила исследовали с помощью прямой радиометрии образцов органов (репродуктивные, печень, почки, легкие, селезенка, кожа, мышцы, тонкий кишечник, желчный пузырь, щитовидная железа и молочная железа (МЖ) у самок) и тканей (кровь, сыворотка). Органы выделяли при аутопсии через 0,25; 0,5; 1; 3; 6; 9; 24 и 48 ч. Уровень радиоактивности измеряли на счетчике гамма-излучения WIZARD 2480 («Perkin Elmer», США). Результаты рассчитывали на 1 г ткани/органа. Стандартные радиометрические показатели образцов контролировали с помощью соответствующих стандартов.

Результаты. Показано, что при пероральном введении мышам ^{125}I-Аимпила определяется во всех органах и тканях. Максимальная концентрация достигается через 30–60 мин, в крови – 10–11 % метки. В печени, легких, коже и МЖ регистрируется максимальное время удержания $MRT_{Аимпила}$ = 9,6–13,7 ч ($MRT_{контроля}$ = 9,11 ч). Избирательная тропность ^{125}I-Аимпила выявлена для МЖ, легких, желчного пузыря, кожи и почек с показателями тканевой доступности ($f_T = AUC_{ткани} / AUC_{крови}$) от 1,15 до 2,33, в случае остальных органов (мышца – почки) f_T = 0,3–0,8. Для репродуктивных органов выявлены гендерные различия в динамике накопления при близких значениях параметров f_T = 0,55 (самцы) и 0,63 (самки). Накопление ^{125}I-Аимпила в МЖ происходит от 1 до 9 ч, пик накопления – 6 ч и характеризуется высоким показателем f_T = 1,43. Выводится ^{125}I-Аимпила преимущественно через почки. Активный процесс выведения завершается к 9 ч. Кумулятивная экскреция метки за 48 ч составила 89,79 %, в том числе с мочой вывелось 69,04 % и с калом 20,75 %.

Заключение. Таким образом, биораспределение метки при пероральном введении ^{125}I-Аимпила отличается избирательной тропностью к ткани МЖ, легких, желчного пузыря, кожи и почек с максимальным накоплением через 6 ч и гендерными различиями (выше – у самок). Тропностью к ткани МЖ можно объяснить более высокую чувствительность рака МЖ человека *in vivo*, обнаруженную при терапии Аимпила ранее.

Н.Я. Гридина, Н.Г. Драгунцова, О.И. Веселова, О.Н. Величко, А.Д. Белоусова, А.П. Колисниченко

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ВЕРАПАМИЛА В НЕОАДЪЮВАНТНОЙ ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ГЛИОМ

ГУ «Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова НАМН Украины», Киев, Украина

Введение. Исследование механизма действия отечественного препарата верапамила свидетельствует о возможности применения этого препарата в целях профилактики возникновения рецидивов в отдаленном послеоперационном периоде у больных со злокачественными глиомами головного мозга. Проведены исследования верапамила, блокатора кальциевых каналов, на опухолеассоциированное воспаление (ОАВ), которое является основным патогенетическим фактором усиления роста и прогрессии глиом головного мозга. На системном уровне ОАВ активизируется в результате некротической гибели клеток глиом и реализуется через снижение уровня трансмембранного потенциала, которое опосредуется повышением уровня агрегации клеток крови. Изменения уровня агрегации клеток крови под воздействием верапамила, вероятно, связано с пролиферативной активностью лимфоцитов, что также может способствовать ускорению роста глиом.

Цель исследования – изучение механизма взаимосвязи уровня агрегации клеток крови с пролиферативной активностью лимфоцитов *in vitro*.

Материалы и методы. Впервые был применен метод определения агрегации клеток крови, использующий физическое явление поверхностного плазмонного резонанса (ППР). Образцы клеток крови больных со злокачественными глиомами разделяли на аликвоты по 200 мкл. Перед началом исследований на ППР-анализаторе в образцы крови добавляли по 20 мкл верапамила. В целях подбора наиболее оптимальных концентраций верапамила, увеличивающих или уменьшающих уровень агрегации клеток

крови, разбавляли 0,25 % раствор верапамила гидрохлорида от 1:10 до 1:100000 раз. Модификацию РБТЛ при различной нейрохирургической патологии проводили *in vitro* 0,25 % раствором верапамила гидрохлорида в указанных разведениях. Проводили стандартизацию показателей уровня агрегации клеток крови и количества лимфобластов в целях обнаружения механизма взаимосвязи этих процессов.

Результаты. При повышении уровня агрегации клеток под воздействием высокодозовых разведений верапамила наблюдается активизация процессов бласттрансформации, что подтверждается увеличением количества бластов в клеточной культуре. При понижении уровня агрегации клеток под воздействием низкодозовых разведений верапамила происходит торможение процессов бласттрансформации.

Заключение. Подавление проявлений ОАВ при злокачественных глиомах связано с механизмом угнетения лимфопролиферативной активности. Верапамил в низких концентрациях способствует понижению уровня агрегации клеток крови, подавлению пролиферативной активности лимфоцитов, что в конечном итоге может помочь в профилактике рецидивов глиом в отдаленном послеоперационном периоде. При любых, самых современных технологиях, включая протонную терапию глиом, необходимо подавление ОАВ.

М.А. Грин[1], И.В. Пантюшенко[1], П.В. Островерхов[1], Е.А. Плотникова[2], Н.Б. Морозова[2], А.В. Старовойтова[3], А.А. Михайловская[3], А.В. Феофанов[4], М.А. Каплан[3], Р.И. Якубовская[2], А.Г. Мажуга[5, 6], А.Ф. Миронов[1]

СЕРОСОДЕРЖАЩИЕ ПРОИЗВОДНЫЕ БАКТЕРИОХЛОРОФИЛЛА А И НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫЕ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРЫ НА ИХ ОСНОВЕ

[1]ФГБОУ ВПО «МИТХТ им. М.В. Ломоносова», Москва;
[2]МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ НМИРЦ Минздрава России, Москва;
[3]МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ НМИРЦ Минздрава России, Обнинск;
[4]ФГБУН «ИБХ им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН», Москва;
[5]ФГАОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва;
[6]НИТУ МИСиС, Москва

Введение. Способность тиолов обратимо окисляться с последующим восстановлением дисульфидной связи с помощью внутриклеточного глутатиона (GSH) лежит в основе действия многих серосодержащих препаратов. Включаясь в цепь окислительно-восстановительных процессов в опухолевых клетках, дисульфиды снижают уровень GSH в них, делая клетки уязвимыми к окислительному стрессу.

Цель исследования. В настоящей работе получены бактериопурпуринимиды с остатками биогенных серосодержащих молекул, а также наноструктурированные фотосенсибилизаторы (ФС) на основе наночастиц (НЧ) золота с целью изучения их фотоиндуцированной цитотоксичности, биораспределения в организме и фотодинамической эффективности.

Материалы и методы. В качестве экспериментальной модели опухолевого роста и для изучения фотоиндуцированной противоопухолевой активности методом фотодинамической терапии использована саркома 37 (S37), которая хорошо изучена, легко прививается иммунокомпетентным мышам F_1 и метастазирует по лимфогенному пути. Соответственно, исследования *in vitro* проведены на клеточной культуре того же гистогенеза – S37. Фотодинамическая эффективность полученных ФС также изучена на крысах с саркомой М-1.

Результаты. Получено новое серосодержащее производное бактериохлорофилла *а*, представляющее собой N-аминобактериопурпуринимид с липоевой кислотой, и его наноструктурированная форма. Сравнение биологических свойств свободного ФС и иммобилизованного на НЧ золота ФС-Au в экспериментах на крысах с саркомой М-1 показало, что иммобилизация увеличивает время циркуляции ФС-Au в кровотоке и повышает его тропность к опухоли. Для бактериопурпуринимида с остатком цистамина (дисульфоБПИ) показана дозозависимая фотодинамическая эффективность: увеличение дозы ФС до 5,0 мг/кг приводит к 100 % торможению роста опухоли и 100 % излеченности животных-опухоленосителей. Эксперименты по изучению фотодинамической эффективности дисульфоБПИ, выполненные на крысах с саркомой М-1, показали 100 % регрессию опухоли при дозе ФС 2,5 мг/кг, дозе света 300 Дж/см^2 и интервале между введением и облучением 3 ч.

Заключение. Показано, что серосодержащие бактериопурпуринимиды в свободном состоянии и иммобилизованные на НЧ золота обладают высокой фотоиндуцированной противоопухолевой активностью как в условиях *in vitro*, так и *in vivo* и являются перспективными ФС для фотодинамической терапии злокачественных новообразований.

Е.Г. Громова, Н.В. Любимова, О.М. Вотякова, Ю.С. Тимофеев, Л.С. Кузнецова

СЕЛЕКТИВНАЯ ЭЛИМИНАЦИЯ СВОБОДНЫХ ЛЕГКИХ ЦЕПЕЙ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ У ПАЦИЕНТОВ С МОНОКЛОНАЛЬНЫМИ ГАММАПАТИЯМИ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Избыточная продукция свободных легких цепей иммуноглобулинов (СЛЦ) и их накопление в сыворотке крови больных моноклональными гаммапатиями являются частой причиной декомпенсированной почечной недостаточности, что определяет тактику лечения и прогноз основного заболевания.

Цель исследования – изучение эффекта селективной элиминации СЛЦ у пациентов с моноклональными гаммапатиями и почечной недостаточностью.

Материалы и методы. В исследование вошли 8 больных множественной миеломой, 2 пациента с диффузной В-крупноклеточной лимфомой и 1 больной с макроглобулинемией Вальденстрема. В сыворотке крови больных с моноклональными гаммапатиями определяли концентрацию СЛЦ (Freelite, Binding Site). У 9 из 11 пациентов выявлена острая почечная недостаточность (ОПН) III–IV стадий по шкале RIFLE, у всех – гиперпродукция СЛЦ. Уровень креатинина у больных с ОПН составлял 263–764 мкмоль/л,

к-СЛЦ – до 74904 мг/л и l-СЛЦ – до 34784 мг/л. Пациентам выполняли селективную элиминацию СЛЦ с применением гемофильтра EMic2 и клиренсом к- и λ-СЛЦ 38 и 32 мл/мин соответственно, с одновременной противоопухолевой терапией в соответствии с принятыми стандартами.

Результаты. За время исследования пациентам было проведено от 5 до 38 сеансов гемодиализа (ГД) с использованием фильтров EMic2 с возможностью селективного удаления к- и l-СЛЦ. У ряда больных с клинически значимой гиперпарапротеинемией параллельно выполняли плазмофильтрацию с удалением до 1,5 л плазмы за 1 процедуру. Установлено, что в процессе 1 сеанса ГД удавалось удалить от 250 до 196000 мг СЛЦ. Максимальное количество СЛЦ, которое получалось элиминировать в ходе всего курса лечения, достигало 1090 г. Десяти пациентам удалось провести адекватную противоопухолевую терапию без редукции доз лекарственных средств. На фоне проводимой терапии у 8 больных с почечной недостаточностью был зарегистрирован значимый клинический и биохимический ответ, в том числе у 5 пациентов почечная функция восстановилась до диализ-независимой (I–II стадии по шкале RIFLE). У 9 пациентов на фоне сочетанной терапии отмечалось клинически значимое снижение концентрации СЛЦ.

Заключение. Экстракорпоральная детоксикация с селективной элиминацией СЛЦ при использовании фильтра EMiC2 позволяет достичь положительной динамики клинических и биохимических показателей, снизить уровень СЛЦ и оптимизировать уровень азотемии, что расширяет возможности адекватной противоопухолевой терапии.

Е.А. Губарева, А.В. Панченко, М.А. Майдин, Е.И. Федорос, М.Л. Тындык

СНИЖЕНИЕ ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ХИМИОТЕРАПИИ НА ЭПИТЕЛИЙ ТОНКОЙ КИШКИ МЫШЕЙ С ПОМОЩЬЮ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Введение. Препараты, используемые для химиотерапии (ХТ) злокачественных опухолей, оказывают токсическое действие на все пролиферирующие клетки организма. Слизистая оболочка тонкой кишки – наиболее быстро обновляющаяся ткань в организме человека, с чем связаны сопутствующие ХТ гастроинтестинальные побочные эффекты, в основе которых лежат гибель пролиферирующих клеток, потеря ворсинок и гибель крипт, сопровождаемая воспалительной реакцией. Препараты, используемые для снижения токсичности ХТ, не должны уменьшать эффективность цитостатика и способствовать росту опухолевых клеток. Перспективными в этом отношении являются природные вещества, относящиеся к полифенолам и обладающие антиоксидантным, противовоспалительным и противоопухолевым действием. Исследуемые препараты ВРС-1 и ВРС-2 содержат гуминовые вещества, обогащенные полифенольными соединениями, и микроэлементы.

Цель исследования – оценить выживаемость крипт тощей кишки мыши при терапии 5-фторурацилом (5-ФУ) и профилактическом введении полифенольных препаратов ВРС-1 и ВРС-2.

Материалы и методы. Исследование проведено на 49 мышах-самцах SHR возрастом 2 мес. Животные были разделены на 4 группы, 3 из которых получили 5-ФУ (внутрибрюшинно в дозе 30 мг/кг дважды с интервалом в 6 ч), 2 группы в течение 5 дней перед этим получали внутрижелудочно препараты ВРС-1 (0,885 мг/кг) и ВРС-2 (11,8 мг/кг). Контрольная группа получала растворитель в соответствующем режиме. На 5-е сутки после введения 5-ФУ всех животных подвергли эвтаназии. Мышей вскрывали и фиксировали в 10 % забуференном формалине тощую кишку, из различных участков которой затем вырезали кольца 4–5 мм и подвергали гистологической проводке. Далее на микротоме делали поперечные срезы толщиной 3–5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Выживаемость крипт оценивали по методике Withers и Elkind (1970). Подсчитывали количество жизнеспособных крипт (не менее 10 клеток с базофильным ядром, лежащих рядом) не менее чем на 6 поперечных срезах. Статистическую оценку полученных результатов проводили с помощью t-критерия Стьюдента.

Результаты. У всех мышей, получивших 5-ФУ, наблюдались гибель части крипт, укорочение или потеря ворсинок, хроническая воспалительная реакция в слизистой оболочке кишки. В контрольной группе среднее число крипт составило 135,91 ± 13,38, в группах 5-ФУ – 115,70 ± 13,42 (p = 7,087). Введение полифенольных препаратов статистически достоверно уменьшало степень повреждения кишечной слизистой оболочки по сравнению с группой, получавшей только цитостатик (ВРС-1: 126,03 ± 17,63; p = 0,0002; ВРС-2: 123,38 ± 15,99; p = 0,003).

Заключение. Полифенольные препараты ВРС-1 и ВРС-2 являются перспективными средствами сопроводительной терапии пациентов, получающих цитостатики.

И.Д. Гулякин[1], А. В Ланцова[1], Е.В. Санарова[1], Л.Л. Николаева[1], Н.А. Оборотова[1, 2], Е.В. Игнатьева[1], Н.А. Дмитричева[1], И.В. Ярцева[1], З.С. Шпрах[1]

ПРИМЕНЕНИЕ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ЛХС-1208 В ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ

[1]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва; [2]ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

Введение. В лаборатории разработки лекарственных форм РОНЦ им. Н.Н. Блохина разработана лиофилизированная лекарственная форма (ЛФ) на основе ЛХС-1208 – соединения из класса индолокарбазолов. Для качественного анализа состава лиофилизированных ЛФ и их компонентов широко применяется метод хроматографии в тонком слое сорбента (ТСХ), отличающийся простотой и экспрессностью. Данный метод предложен для идентификации действующего вещества в ЛФ ЛХС-1208.

Цель исследования. Идентификация ЛХС-1208 в лиофилизированной ЛФ методом ТСХ.

Материалы и методы. ЛХС-1208, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций, 9 мг (РОНЦ им. Н.Н. Блохина), пластины ПТСХ-АФ-В-УФ (Сорбфил, Россия); органические растворители. Содержимое флако-

на растворяли в 5 мл диметилформамида (ДМФА). На линию старта хроматографической пластины наносили по 5 мкл раствора препарата и растворов веществ-свидетелей (ЛХС-1208 и модельной смеси ЛФ, состоящей из ЛХС-1208 и повидона) в ДМФА. Пластину с нанесенными пробами подсушивали на воздухе в течение 30 мин, помещали в хроматографическую камеру со смесью растворителей и хроматографировали восходящим способом. Пластину подсушивали на воздухе до полного исчезновения запаха растворителей. Полученные хроматограммы не требовали дополнительной обработки какими-либо проявителями, поскольку активное вещество имеет интенсивную окраску, Хроматограмму оценивали по положению, совокупности величины и интенсивности окраски пятен ЛХС-1208 в пробе испытуемого раствора и пробах стандартных растворов.

Результаты. Из нескольких систем растворителей экспериментально была выбрана система бензол – спирт этиловый (1:1). Присутствие значительного количества повидона в единице ЛФ по сравнению с количеством основного вещества (600 и 9 мг соответственно) затрудняет разделение компонентов ЛФ, поэтому для более правильной идентификации активного вещества на пластины в качестве стандартных образцов веществ-свидетелей было предложено наносить пробы растворов в ДМФА субстанции ЛХС-1208 и модельной смеси ЛФ. При просмотре хроматограмм в ультрафиолетовом свете в пробах ЛФ и модельной смеси помимо пятна ЛХС-1208 наблюдалось хорошо очерченное пятно на старте, соответствующее повидону.

Заключение. Проведены исследования для идентификации ЛХС-1208 методом ТСХ, по результатам которых подобран состав подвижной фазы.

Работа выполнена в рамках Государственного контракта № 13411.1008799.13.20 от 24.06.2013 «Доклинические исследования инновационного лекарственного средства на основе производного индолокарбазола для лечения онкологических заболеваний».

Н.Н. Гурина[1], Т.Ю. Егорова[1], С.Г. Фомина[1], Д.В. Новиков[1], Н.В. Красногорова[1], А.Д. Перенков[1], А.В. Калугин[1], А.Ю. Барышников[2], В.В. Новиков[1]

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ АЛЬТЕРНАТИВНЫХ ФОРМ мРНК MUC1 В ОПУХОЛЕВЫХ ОЧАГАХ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

[1]ФГАОУ ВО «ННГУ им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород;
[2]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Ген *MUC1* экспрессируется в эпителиальных клетках. В раковых клетках происходят транскрипционные и посттранскрипционные изменения *MUC1*, приводящие к метаболическому перепрограммированию клетки. В настоящее время описано образование 78 изоформ в результате сплайсинга мРНК MUC1. Наиболее часто обнаруживаются изоформы с выпадением региона тандемных повторов (MUC1-X, – Y, – Z) и изоформа без трансмембранного региона (MUC1-Seq). К настоящему моменту функциональное значение изоформ *MUC1* остается неизученным. Однако известно, что повышенная экспрессия MUC1-Seq и MUC1-Y регистрируется при воспалении слюнных и слезных желез.

Цель исследования – изучение связи экспрессии альтернативных форм мРНК MUC1 в опухолевых очагах рака молочной железы (РМЖ) с маркером воспаления интерлейкином-32 (ИЛ-32).

Материалы и методы. Материалом для исследования послужили 40 образцов опухолевых очагов от больных РМЖ. Материалы предоставлены РОНЦ им. Н.Н. Блохина. Методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) выявляли 3 группы изоформ мРНК MUC1 с использованием специфичных праймеров. В 1-ю группу входили изоформы с добавлением лишних аминокислот в N-терминальную часть белка (MUC1-A, MUC1-B, MUC1-C, MUC1-D); 2-я группа содержала изоформы с выпадением аминокислот из региона тандемных повторов (MUC1-X, MUC1-Y, MUC1-Z); 3-я группа – изоформу без трансмембранного региона (MUC1-Seq) и классическую форму мРНК (MUC1-Rep). Результаты реакции оценивали электрофорезом нуклеиновых кислот в агарозном геле в присутствии бромида этидия. Уровень мРНК ИЛ-32 оценивали методом ОТ-ПЦР в реальном времени относительно мРНК β2-микроглобулина.

Результаты. Экспрессия альтернативных форм мРНК MUC11-й группы наблюдалась в 84 % образцов (27 из 32), 2-й группы – в 25 % образцов (8 из 32), экспрессия мРНК MUC1-Rep регистрировалась в 62,5 % образцов (20 из 32), а мРНК MUC1-Seq – во всех исследованных образцах. Ранее нами было установлено, что экспрессия мРНК MUC1 в опухолевых очагах РМЖ коррелирует с экспрессией ИЛ-32. При сравнении частот обнаружения изоформ мРНК MUC1 с уровнями мРНК ИЛ-32 показано, что при РМЖ не наблюдается зависимости между экспрессией изоформ мРНК MUC1 и изменением уровня мРНК ИЛ-32.

Заключение. Таким образом, в клетках опухолей молочной железы воспалительные процессы, опосредованные ИЛ-32, не связаны с экспрессией исследуемых альтернативных форм мРНК MUC1.

И.В. Гусев[1], В.П. Сокуренко[2], Е.А. Маслюкова[2], А.В. Мешечкин[2], М.А. Коровина[1], Л.И. Корытова[2], Н.Д. Олтаржевская[1]

ПРИМЕНЕНИЕ СТРУКТУРИРОВАННЫХ ГИДРОГЕЛЕВЫХ МАТЕРИАЛОВ «КОЛЕГЕЛЬ-ДИСК» ДЛЯ НАПРАВЛЕННОГО ТРАНСПОРТА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ ХИМИОЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

[1]ООО «КОЛЕТЕКС», Москва;
[2]ФГБУ РНЦРХТ Минздрава России, Санкт-Петербург

Введение. Получены высокоструктурированные гидрогелевые диски «Колегель-диск» на основе биополимера-радиопротектора альгината натрия с различными препаратами (цитостатические, радиомодифицирующие (5-фторурацил), антисептические (диоксидин, деринат) и др.) для направленного подведения к очагу поражения у онкологических больных.

Цель исследования – применение гидрогелевых материалов «Колегель-диск» для направленного подведения введенных в них препаратов к очагу поражения у онкологических больных при химиолучевой терапии для уменьшения резорбции опухоли и в качестве материалов сопровождения для улучшения качества жизни больных и снижения нежелательных побочных эффектов лечения.

Материалы и методы. «Колегель-диск» требуемого объема и концентрации лекарственного препарата применялись в группе из 38 пациентов: 19 – с диагнозом рак прямой кишки (РПК), 10 – рак молочной железы (РМЖ), 9 – рак дна полости рта. У пациентов с РПК проводилась неоадъювантная лучевая терапия (ЛТ). Больному ректально вводили диск с 5-фторурацилом с экспозицией до 6–8 ч 1–2 раза в сутки (утром и за час до сна). При комбинированном лечении РМЖ применялись диски с 5-фторурацилом в сочетании с облучением в режиме среднего фракционирования. Диск с препаратом накладывался на поверхность опухолевой язвы за 3 сут до начала ЛТ, а далее ежедневно с 1-го дня ЛТ утром и вечером. В случае рака дна полости рта диски применялись ежедневно с 1-го дня ЛТ за 30–40 мин до сеанса облучения и 1–2 раза в день после сеанса ЛТ. При наличии лучевой реакции со стороны слизистой оболочки полости рта в процессе и по окончании ЛТ (в постлучевом периоде) использовались диски с прополисом 2–3 раза в день в течение 1 мес.

Результаты. У всех больных РПК токсические эффекты были минимальны и купировались традиционными методами без осложнений. При применении дисков в лечении РМЖ удалось добиться уменьшения признаков интоксикации и количества отделяемого из язвы, причем результат достигнут при значительно меньших дозах химиопрепарата, нежели при стандартном лечении. Эффективность комбинированного лечения доказана по следующим критериям: локальный контроль опухоли, анализ токсичности и непосредственный эффект. У всех пациентов при раке дна полости рта наблюдалось полное заживление опухолевых язв, что позволило в дальнейшем перейти к традиционной химиотерапии.

Заключение. Использование структурированных дисков «Колегель-диск» в группах пациентов с РПК и РМЖ при агрессивной предоперационной химиолучевой терапии обеспечило усиление степени резорбции опухоли при меньших суммарных дозах 5-фторурацила, снижение общей токсичности лечения и возможность выполнения 2-го этапа лечения (операции) в запланированный срок.

С.В. Гусельников, С.В. Кулемзин, А.А. Горчаков, О.Ю. Волкова, А.В. Таранин

БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ АФФИННЫЕ БЕЛКИ НА ОСНОВЕ ДИВЕРСИФИЦИРОВАННОГО FN3 ДОМЕНА

ФГБУН ИМКБ СО РАН, Новосибирск

Введение. Создание мультифункциональных антител для иммунотерапии рака является одним из наиболее приоритетных направлений развития медицинской биотехнологии. Агенты, способные распознавать 2 и более мишеней, необходимы для увеличения избирательности противоракового воздействия, для блокирования роста раковых клеток с помощью одновременного воздействия на разные сигнальные пути, для перенацеливания собственных цитотоксических клеток организма. К настоящему времени разработан широкий ряд полиспецифических молекул на основе классических моноклональных антител. Параллельно идет активный поиск и испытание альтернативных антигенраспознающих доменов для конструирования нового поколения иммунотерапевтических молекул с улучшенными свойствами. Аффинные белки на основе диверсифицированного 10-го домена фибронектина человека 10FnIII (Fn3) являются одной из наиболее перспективных альтернатив классическим антителам. Укладку Fn3-домена отличают компактность, отсутствие гликозилирования, дисульфидных связей, высокая термостабильность и низкая иммуногенность. Тот факт, что в природе такие домены образуют мультидоменные белковые цепи, предполагает возможность создания мультифункциональных терапевтических молекул с помощью последовательного соединения аффинных Fn3-доменов разной специфичности.

Цель исследования – определить свойства двухдоменных белков, сконструированных на основе Fn3-доменов разной специфичности.

Материалы и методы. С помощью методов молекулярного клонирования получены двухдоменные белки различной архитектуры, содержащие Fn3-домены, распознающие белки человека VEGFR2 и CEA. Полученные белки содержат междоменный линкер (SGGG) 2SGG и С-концевые Strep-, FLAG- и 6xHis-эпитопы. Способность Fn3-белков связывать мишени в растворе и на поверхности клеток оценена с помощью иммуноферментного анализа и проточной цитометрии.

Результаты. Показано, что белки, состоящие из тандемно соединенных VEGFR2- и CEA-связывающих Fn3-доменов, обладают биспецифичностью. Связывающие свойства обоих доменов не зависят от их положения на N- или С-конце.

Заключение. Тандемное соединение Fn3-доменов разной специфичности может быть использовано для создания бифункциональных аффинных белков. Полученные результаты послужат основой конструирования трех- и четырехдоменных мультифункциональных Fn3-агентов для использования в иммунотерапевтических целях.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований по теме 0310-2015-0006 в части молекулярного клонировании и гранта РФФИ № 16-04-01469-а в части анализа белок-белковых взаимодействий.

А.К. Даиров, С.М. Адекенов

ВЛИЯНИЕ ГИДРОХЛОРИДА 1(10)β-ЭПОКСИ-13-ДИМЕТИЛАМИНО-5,7α,6,11β(H)-ГВАЙ-3(4),11(13)-ДИЕН-6,12-ОЛИДА НА ГЛИОМУ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ЕГО ФАРМАКОКИНЕТИКА

АО МНПХ «Фитохимия», Караганда, Республика Казахстан

Введение. В настоящее время смертность от онкологических заболеваний по частоте находится на 2-м месте после сердечно-сосудистых заболеваний, поэтому лечение рака любой локализации является важной проблемой современной медицины. В частности, имеющая нейроэктодермальное происхождение глиома головного мозга является самой распространенной группой первичных опухолей головного мозга, их доля от всех первичных внутричерепных новообразований у взрослых составляет более 58 %.

Цель исследования – определить влияние гидрохлорида 1(10)β-эпокси-13-диметиламино-5,7α,6,11β(H)-гвай-3(4),

11(13)-диен-6,12-олида на подавление роста клеток глиомы головного мозга в условиях экспериментальных исследований *in vitro*.

Материалы и методы. Изучение ингибирующего действия соединения на пролиферацию клеток глиомы головного мозга проводилось на модели клоногенных клеток глиомы крысы С6, являющейся экспериментальной моделью мультиформной глиобластомы человека, в условиях *in vitro*.

Результаты. Установлено, что эффективными дозами гидрохлорида 1(10)β-эпокси-13-диметиламино-5,7α,6,11β-(Н)-гвай-3(4),11(13)-диен-6,12-олида, достоверно подавляющими пролиферацию клоногенных опухолевых клеток, являются дозы 20 мг/мл (LD_{96}), 2 мг/мл (LD_{76}), 1 мг/мл (LD_{85}), 2,5 мкг/мл (LD_{84}), 1 мкг/мл (LD_{92}), 0,25 мкг/мл (LD_{90}). Фармакокинетические исследования показали, что эффективность соединения обусловлена высокой степенью его тканевой доступности. Наиболее высокая концентрация гидрохлорида 1(10)β-эпокси-13-диметиламино-5,7α,6,11β (Н)-гвай-3(4),11(13)-диен-6,12-олида в течение 1-го часа после введения создается в печени, селезенке, легких. Ко 2-му часу сравнительно высокая концентрация создается в скелетных мышцах, почках, тонком кишечнике. К 4-му часу высокая концентрация соединения обнаруживается в головном мозге и костной ткани.

Заключение. Проведенные экспериментальные исследования по изучению ингибирующего действия гидрохлорида 1(10)β-эпокси-13-диметиламино-5,7α,6,11β (Н-гвай-3(4),11(13)-диен-6,12-олида на пролиферацию клеток глиомы головного мозга в условиях *in vitro* показали, что изучаемое соединение является перспективным противоопухолевым средством в отношении злокачественных новообразований головного мозга. При этом гидрохлорид 1(10)β-эпокси-13-диметиламино-5,7α,6,11β(Н)-гвай-3(4),11(13)-диен-6,12-олида обладает рядом преимуществ, в частности не оказывает токсического воздействия на организм, не вызывает иммунодепрессии и не влияет на гемопоэз, способен эффективно преодолевать гематоэнцефалический барьер.

Работа выполнена при финансовой поддержке КН МОН РК по грантовому проекту «Изучение взаимосвязи «структура – активность» на основе модели виртуального скрининга природных терпеноидов и их производных» (№ государственной регистрации 0115РК00182).

А.К. Даиров, Р.Б. Сейдахметова, С.М. Адекенов

КОМПЬЮТЕРНОЕ ПРОГНОЗИРОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СЕСКВИТЕРПЕНОВЫХ ЛАКТОНОВ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ

АО МНПХ «Фитохимия», Караганда, Республика Казахстан

Введение. В настоящее время из растительных источников выделено свыше 4000 сесквитерпеновых лактонов различных структурных типов, которые занимают важное место в разработке и внедрении в практическую медицину новых оригинальных лекарственных препаратов. Повышенный интерес исследователей к этому классу природных соединений вызван широким спектром их биологической активности, включающей противоопухолевую, антимикробную, противовоспалительную, антиоксидантную, что обусловлено наличием в структуре сесквитерпенового лактона γ-лактонного цикла и экзометиленовой группы.

Цель исследования – определить спектр биологической активности для сесквитерпеновых лактонов ахиллина, оксима ахиллина, аустрицина, оксима аустрицина, гроссмизина, оксима гроссмизина, 5β(Н) – аустрицина, леукомизина, оксима леукомизина, матрикарина и матрицина с помощью компьютерной системы PASS online; провести верификацию результатов компьютерного прогнозирования с данными биологических исследований в тест-системах *in vitro* и *in vivo*.

Материалы и методы. Прогнозирование спектра биологической активности сесквитерпеновых лактонов и их производных проводили с помощью компьютерной системы PASS online разработки В.В. Поройкова и Д.А. Филимонова. Цитотоксическую активность соединений оценивали в тесте выживаемости личинок морских рачков *Artemia salina* (Leach) в условиях культивирования *in vitro*. Противоопухолевую активность изучали на беспородных белых крысах с перевиваемыми опухолями мышей и крыс в условиях *in vivo*.

Результаты. Установлено, что для каждого изучаемого сесквитерпенового лактона прогнозируется широкий спектр биологической активности: противоопухолевая, аналептическая, цитостатическая, противоэкземная, противовоспалительная, противогрибковая. Система PASS online прогнозирует высокую вероятность экспериментального подтверждения противоопухолевой активности для ахиллина – 94 %, леукомизина – 94 %, матрикарина – 92 %, аустрицина – 91 %, гроссмизина – 91 %. Обнаружена цитотоксическая активность ахиллина и оксима гроссмизина в тесте выживаемости личинок морских рачков *Artemia salina* (Leach). При этом установлена цитотоксическая активность ахиллина в отношении линии опухолевых клеток Р3Х63. Ag8.653 (мышиная миелома). Выявлена противоопухолевая активность ахиллина и гроссмизина в тесте с перевиваемыми опухолями на белых беспородных крысах в условиях *in vivo*. Так, сесквитерпеновый лактон ахиллин проявляет противоопухолевую активность в отношении штаммов раковых клеток лимфосаркомы Плисса, альвеолярного рака печени РС-1 и саркомы-45.

Заключение. Достоверность данных компьютерного прогнозирования биологической активности для сесквитерпеновых лактонов и их производных подтверждена экспериментальными данными биологических тестов на противоопухолевую и цитотоксическую активность в условиях *in vitro* и *in vivo*.

Работа выполнена при финансовой поддержке КН МОН РК по грантовому проекту «Изучение взаимосвязи «структура – активность» на основе модели виртуального скрининга природных терпеноидов и их производных» (№ государственной регистрации 0115РК00182).

А.М. Дейчман

ВОЗМОЖНЫЕ НОВЫЕ МЕХАНИЗМЫ В АНТИГЕНПРЕЗЕНТИРУЮЩИХ КЛЕТКАХ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Иммунотерапия, например с участием дендритных клеток (ДК) (активированных ДК-вакцин на ос-

нове миелоидных или других предшественников), имеет широкое применение, прежде всего в онкологии. Активируя клетки памяти, распознавая и представляя Т-/В-лимфоцитам антигены (АГ), включая опухолеспецифические (ОСА), с помощью высокоэффективных молекул главного комплекса гистосовместимости, а также интерферонов, интерлейкинов, костимулирующих молекул, ДК (предпочтительно зрелые), как наиболее активные из АГ-презентирующих клеток (АПК), индуцируют первичный/вторичный иммунные ответы, поддерживают жизнь, дифференцировку Т-лимфоцитов и баланс между цитотоксическим (через Th1; популяция ДК1) и гуморальным (Th2; ДК2) иммунными ответами (кроме случаев супрессии, толерогенности, аутоиммунитета, анергии; апоптоза, включая ДК). ДК размножают (*in vitro*, из пре-ДК $CD34^+$/$CD14^+$; *in vivo*) и активируют лизатами предварительно обработанных (облучением, повторным размораживанием) опухолевых клеток, ОСА-пептидами, ДНК/РНК-специфическими АГ, в том числе внутри нуклеиновых векторов/вирусов.

Цель исследования. Предложен способ формирования, внегеномного синтеза олигонуклеотидных последовательностей специальным механизмом вариабельной поэпитопной обратной трансляции: белковый эпитоп в $(5–10)_n$ аминокислот выполняет роль (псевдо) матрицы при синтезе мини/микросателлитподобных последовательностей, так называемых олигонуклеотидных эквивалентов эпитопа (олигоНЭ).

Материалы и методы. Создание огромного реального/потенциального многообразия Т-/В-рецепторов и антител (АТ) за счет реаранжировки исходного набора тяжелых/легких цепей и их V (D) JC-сегментов в иммуноглобулинах изучено основательно. Однако не менее значительную роль в создании специфичности названных молекул играют АГ-специфические участки, в состав которых добавляются отдельные, стыкующиеся между вышеназванными сегментами нуклеотиды Р-(концевые палиндромные; возникают на концах сегментов при вырезании одноцепочечных петель ДНК и достройке «хвостов» ферментами репарации ДНК) и N-(не кодируемые сегментами; достраиваются TdT-ферментом в IgH) типов. Природа их появления понятна не полностью.

Результаты. Анализ данных созревания лимфоцитов показал, что полноценность этого процесса и последующие лимфогенез/иммуногенез облигатно связаны с актом физического контакта, во-первых, между АПК и Т-хелперами и, во-вторых, между Т-хелперами и низкодифференцированными предшественниками (НДП) в костном мозге и тимусе.

Заключение. Предполагается, что появление Р- и N-нуклеотидов в АГ-специфических областях Т-/В-рецепторов и АТ связано с воспроизводством в АПК (здесь ДК) мини/микросателлитных олигоНЭ, которые далее в составе ДНК/РНК-векторов, ДНП/РНП, экзосомоподобных структур (или в свободном виде) переносятся согласно схеме АПК → Т-хелперы → НДП и служат основой для редактирования РНК/ДНК, репарации/репликации-скольжения ДНК и других процессов.

А.М. Дейчман

ВОЗМОЖНЫЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАЦИИ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. При фотодинамической терапии фотосенсибилизаторы (ФС) накапливаются в опухолевых клетках (ОК) почти избирательно, поглощают свет определенных длин волн, переходят в электрон-возбужденное состояние и генерируют фотохимическую реакцию. Появляется синглетный кислород ($^1O_2$), повреждающий молекулы-мишени (белки, ДНК/РНК, липиды и др.), мембраны и органеллы ОК. Однако те же ФС (*здесь* – мини-/микродозы фотодитазина, производное хлорина е6; высокие избирательность, скорость накопления/выведения, квантовый выход) и оптическое лазерное (*здесь* – низкоинтенсивное гелий-неоновое/арсенид-галлиевое) облучение способны воздействовать на компоненты крови (белки, липиды, полисахариды, гемоглобин) пациентов с раком легких, желудка, толстой кишки, молочной железы, почки, яичников и др., а также активировать $O_2 \rightarrow {}^1O_2$-переход.

Цель исследования. Ранее предложен внегеномный синтез олигонуклеотидов механизмом вариабельной поэпитопной обратной трансляции (вПОТ): эпитоп белка в $(5–10)_n$ аминокислот выполняет роль (псевдо)/матрицы при синтезе мини-/микросателитподобных нуклеиновых эквивалентов (НЭ), так называемых олигоНЭ эпитопа. Такой синтез, видимо, возможен в самоорганизующейся супрамолекулярной гипотетической частице «ретранслосоме» (с нановключениями олигоНЭ и др.) и зависим не только от молекулярных составляющих, протон-электронных переносов, но и стандартных/модифицирующих потоков элементарных частиц (*здесь* – фотонов).

Материалы и методы. После трансфузии фотомодифицированной крови и последующей циркуляции ее в кровяном русле в.н. агенты и воздействия могут вызывать нормализующий эффект в отношении только тех биохимических и других процессов и систем организма (нервной, эндокринной и т. д.), структурно-функциональные свойства которых претерпели значительные отклонения (наблюдают: снижение боли, тяжести первичных лучевых реакций, побочных эффектов химиотерапии; ускорение регенерации облученных тканей; предупреждение постоперационных осложнений).

Результаты. Повреждающие и нормализующие эффекты коррелируют с высокими и низкими дозами активных форм кислорода (АФК), кислорода/азота, воспроизводимых в ОК (митохондриях и др.) при окислительно-восстановительных и других реакциях. Кроме того, эффекты сопровождаются генерацией возбужденных электронных состояний {атомов/(био)-(макро)-молекул}, а также поглощением и испусканием квантов света (хемо-/био-люминесценцией), переносом энергии.

Заключение. Повреждающее и сигнально-регуляторное воздействия могут реализоваться не только в результате прямого взаимодействия АФК с в. н. мишенями (быстро), но и опосредованно (дольше у части ОК), с привлечением мини-/микросателлитподобных олигоНЭ (продуктов вПОТ-механизма), потенциально способных принимать участие

в процессах пролиферации, дифференцировки, апоптоза, регуляции клеточного цикла, репликации, транскрипции и т. д.

А.М. Дёмин[1], Ю.В. Кузнецова[2], В.П. Краснов[1], А.А. Ремпель[2]

СИНТЕЗ ГИБРИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ Fe_3O_4 И НАНОЧАСТИЦ Ag_2S В БИОМЕДИЦИНСКИХ ЦЕЛЯХ

[1]ФГБУН «ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН», Екатеринбург; [2]ФГБУН ИХТТ УрО РАН, Екатеринбург

Введение. В настоящее время магнитные наночастицы (МНЧ) и квантовые точки (КТ) достаточно часто используются в качестве мультимодальных платформ для получения на их основе диагностических и терапевтических препаратов, в первую очередь в онкологии. МНЧ часто используют в качестве материалов, усиливающих контраст при магнитно-резонансной томографии. Эмиссия КТ Ag_2S в близкой инфракрасной (ИК) области является основным преимуществом в визуализации клеток оптическими методами, так как в этой части диапазона автофлуоресценция клеток минимальна. Кроме того, преимуществом наночастиц Fe_3O_4 и Ag_2S является их низкая токсичность и возможность получения на их основе материалов в биомедицинских целях.

Цель исследования – получение гибридных наноматериалов на основе Fe_3O_4 и Ag_2S, сочетающих в себе как магнитные свойства МНЧ, так и оптические свойства КТ.

Материалы и методы. КТ Ag_2S и МНЧ Fe_3O_4 получали осаждением частиц из растворов соответствующих солей. КТ стабилизировали бычьим сывороточным альбумином (БСА), а для стабилизации МНЧ использовали N-(фосфонометил) иминодиуксусную кислоту (PMIDA). Методом динамического рассеяния света (Zetasizer Nano ZS) изучены гидродинамические характеристики полученных суспензий КТ и гибридных наночастиц (Fe_3O_4-BSA-Ag_2S). Оптические свойства изучены при использовании UV-2401PC (Shimadzu). Fe_3O_4-BSA-Ag_2S охарактеризованы данными ИК-спектроскопии (Nicolet 6700) и РСА (STADI-P, STOE).

Результаты. На 1-м этапе исследованы условия получения стабильных водных суспензий КТ на основе Ag_2S при использовании БСА и проведено исследование влияния количества БСА на стабильность получаемых суспензий Ag_2S-BSA. Показано, что для стабилизации 1 мг Ag_2S в воде (0,35 мг/мл) достаточно 0,1 мг БСА. В работе предложен новый метод синтеза гибридных наночастиц на основе Fe_3O_4 и КТ Ag_2S, заключающийся в нанесении на поверхность МНЧ БСА и осаждении в дальнейшем на белковом покрытии КТ. Для этого к коллоидному раствору Fe_3O_4-PMIDA добавляли раствор БСА. Молекулы БСА содержат в своем составе как свободные карбоксильные, так и аминогруппы. Использованные в реакции Fe_3O_4-PMIDA имеют высокий отрицательный поверхностный заряд, что увеличивает силу связывания молекул БСА с поверхностью за счет ионного взаимодействия между карбоксильными группами PMIDA и аминогруппами БСА. Осаждение КТ проводили по аналогии с методикой, разработанной на 1-м этапе работы путем добавления к наночастицам Fe_3O_4-PMIDA-БСА последовательно Ag^+ и S^-.

Заключение. Предложен новый метод синтеза МНЧ на основе Fe_3O_4 и КТ Ag_2S, заключающийся в нанесении на поверхность МНЧ БСА и осаждении на белковом покрытии КТ. Полученные гибридные наноматериалы могут быть использованы для реализации новых подходов к визуализации клеток (том числе опухолевых) и изучения внутриклеточных процессов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 14-03-00146-а) и УрО РАН (№ 15-21-3-6).

А.М. Дёмин, М.А. Макаренко, В.П. Краснов

СИНТЕЗ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ RGD-ПЕПТИДА

[1]ФГБУН «ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН», Екатеринбург

Введение. Производные RGD-пептида (содержащие в своей структуре фрагмент *L*-Arg-Gly-*L*-Asp) в настоящее время используются в качестве молекулярных векторов, обеспечивающих специфическую доставку препарата в опухолевые ткани за счет связывания с интегринами $\alpha_{IIb/IIa}$, $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$, вовлеченными в процессы метастазирования опухолей и ангиогенеза. Конъюгация RGD-пептидов с терапевтическими и диагностическими агентами (противораковыми препаратами или наночастицами) может позволить получить высокоэффективные препараты для использования в онкологии.

Цель исследования – разработка синтетических подходов для получения производных KRGD- и GRGD-пептидов, которые в дальнейшем могут быть конъюгированы с магнитными наночастицами (МНЧ) для применения в магнитно-резонансной диагностике онкологических заболеваний.

Материалы и методы. В работе использовали классические методы пептидной химии в растворе. Синтез пептидов осуществляли путем последовательного наращивания пептидной цепи, исходя из диметилового эфира *L*-аспарагиновой кислоты. Строение и чистота полученных продуктов подтверждена данными ^{1}H ядерного магнитного резонанса (Bruker Avance 500), элементного анализа (Perkin Elmer PE 2400), HRMS (LCMS-2010 фирмы «Shimadzu») и обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хромотографии (Agilent 1100, колонка Phenomenex Luna C-18).

Результаты. На 1-м этапе был оптимизирован метод синтеза RGD-пептида. Путем его конденсации с Fmoc-L–Lys (Boc) – OH или Fmoc-Gly при использовании TBTU в качестве конденсирующего агента получены избирательно защищенные производные KRGD и GRGD соответственно. Fmoc-группы удаляли 20 % пиперидином в метаноле, в результате чего получали пептиды со свободными аминогруппами. Далее проводили конденсацию с глутаровым ангидридом и получали целевые производные KRGD- и GRGD-пептидов, содержащие спейсеры со свободными карбоксильными группами соответственно. Защита функциональных групп пептида была выбрана таким образом, чтобы сохранить их биологические свойства и при этом обеспечить возможность их связывания с другими биомолекулами или материалами, например с поверхностью МНЧ в целях создания МРТ-контрастных препаратов для визуализации опухолевых тканей.

Заключение. Разработаны синтетические подходы для получения производных защищенных KRGD- и GRGD-пептидов, содержащих остатки глутаровой кислоты, при-

годных для их последующей конденсации с другими биомолекулами или МНЧ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 14-03-00146-а) и УрО РАН (№ 15-21-3-6).

А.М. Дёмин[1], А.Г. Першина[2], В.В. Иванов[2], О.Б. Шевелев[3], К.В. Невская[2], Д.О. Ащеулова[2], В.П. Краснов[1], А.Э. Сазонов[2], Л.М. Огородова[2]

СИНТЕЗ НАНОГИБРИДНОЙ КОНСТРУКЦИИ НА ОСНОВЕ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ FE_3O_4, ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫХ pH-ЗАВИСИМЫМ ПЕПТИДОМ (PHLIP), ДЛЯ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ЗОН ЛОКАЛЬНОГО АЦИДОЗА

[1]ФГБУН «ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН», Екатеринбург; [2]ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России, Томск; [3]ФГБНУ ИЦГ СО РАН, Новосибирск

Введение. Пептиды pHLIPs (pH Low Insertion Peptides) – класс гидрофобных пептидов, способных встраиваться в мембраны клеток при низких значениях pH. Известно, что опухолевые ткани имеют пониженную pH межклеточного пространства. Поэтому pHLIP может служить молекулярным вектором для транспортировки лекарственных веществ или, например, магнитных наночастиц (МНЧ) в опухоль. Таким образом, можно получить высокоэффективные диагностические препараты для использования в онкологии.

Цель исследования – разработка нанобиогибридной конструкции на основе МНЧ, модифицированных силановыми производными и функционализированных за счет формирования ковалентной связи с pH-чувствительным пептидом, предназначенной для выявления зон локального ацидоза *in vivo* методом магнитно-резонансной (МР) томографии.

Материалы и методы. Для получения нанобиогибридной конструкции использовали МНЧ Fe_3O_4 диаметром 10 нм, полученные методом осаждения из растворов солей Fe^{3+} и Fe^{2+}. Наночастицы охарактеризованы методами инфракрасной спектроскопии, сканирующей и просвечивающей электронной микроскопии, динамического рассеяния света. Проведены исследования МР-контрастных свойств *in vitro* и *in vivo* (Bruker, Biospec 117/16 USR, Германия).

Результаты. МНЧ модифицировали 3-аминопропилсиланом, далее проводили конденсацию малеимидного кросс-линкера EMCS, имеющего активированную гидроксисукцинимидом карбоксильную группу, с аминогруппами на поверхности МНЧ. Иммобилизация pHLIP на МНЧ проведена за счет нуклеофильного присоединения SH-группы L–Cys данного пептида к двойной связи остатка малеимида. В результате получена наногибридная конструкция МНЧ – pHLIP, в которой пептид закреплен на поверхности ковалентно. МР-контрастные свойства МНЧ подтверждены исследованиями *in vitro* и *in vivo*, эффективное контрастирование патологической ткани достигается при введении наноконъюгата в дозе 0,6 мг/кг, сопоставимой с дозами введения ряда коммерческих препаратов, например Feridex. По данным ЛДГ- и МТТ-тестов полученный наноконъюгат в концентрации до 40 мкг/мл не оказывал выраженного токсического действия *in vitro* на клетки линии НТС.

Заключение. Проведена иммобилизация pHLIP на МНЧ на основе Fe_3O_4. pHLIP был закреплен на поверхности 3-аминопропилсилан-модифицированных МНЧ при использовании гетерофункционального линкера EMCS. Полученные МНЧ-pHLIP малотоксичны, а по своим МР-контрастным свойствам сопоставимы с рядом коммерческих препаратов и могут быть использованы для создания в дальнейшем препаратов для МР-диагностики.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-15-00247).

А.М. Дёмин[1], А.Г. Першина[2], А.Э. Сазонов[2], Л.М. Огородова[2], В.П. Краснов[1]

ХИМИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ ПЕПТИДАМИ И БЕЛКАМИ

[1]ФГБУН «ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН», Екатеринбург; [2]ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России, Томск

Введение. Наноматериалы на основе магнитных наночастиц (МНЧ), в первую очередь Fe_3O_4, часто используются как диагностические (в том числе для магнитно-резонансной томографии или магнитной релаксометрии) и терапевтические (гипертермия) агенты, в качестве систем фармацевтической доставки лекарственных средств, применяемых в онкологии и других областях.

Цель исследования – разработка подходов к модификации МНЧ пептидами и белками визуализирующих диагностических агентов и препаратов для терапии онкологических заболеваний.

Материалы и методы. В работе использованы МНЧ на основе Fe_3O_4 диаметром 10 нм, полученные методом осаждения из растворов солей Fe^{3+} и Fe^{2+}. МНЧ предварительно функционализировали 3-аминосиланом (МНЧ-NH_2) (ковалентно) или N-(фосфонометил)иминодиуксусной кислотой (МНЧ-COOH) (нековалентно). В работе использованы методы инфракрасного, ультрафиолетового излучения, флуориметрии и масс-спектроскопии высокого разрешения и др.

Результаты. Иммобилизацию на функционализированные МНЧ можно проводить путем конденсации амино- или карбоксильных групп на их поверхности со свободными карбоксильными или аминогруппами белка (или пептида) соответственно при использовании карбодиимидов. На примере конъюгации МНЧ с pHLIP флуоресцентным белком TagGFP2 и антителами к CD117 изучены процесс иммобилизации пептидов и белков на поверхность МНЧ при использовании 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида (EDC) и возможность протекания побочных процессов, связанных с поликонденсацией молекул пептидов и белков в присутствии карбодиимида. Реакции проводили в фосфатном буферном растворе (pH 7,5) при использовании эквимольных количеств EDC в расчете на количество функциональных групп на поверхности МНЧ. В случае МНЧ-COOH на 1-м этапе проводили активацию карбоксильных групп EDC, после чего добавляли соответствующий аминокомпонент. В случае МНЧ-NH_2 EDC добавляли в реакционную массу в присутствии карбоксильной компоненты.

Заключение. Разработаны химические подходы к получению МНЧ-конъюгатов с пептидами и белками. Пока-

зано, что в выбранных условиях возможность протекания побочных процессов поликонденсации незащищенных пептидов и белков при использовании карбодиимидов незначительна.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-15-00247) в части синтеза и МРТ-исследований наноконъюгатов МНЧ-pHLIP и TagGFP2. А также РФФИ (№ 14-03-00146-а) и УрО РАН (№ 15-21-3-6) в части синтеза наноконъюгатов МНЧ-CD117.

А.С. Дерюжкин[1], Ю.Н. Потапов[2]

СРАВНИТЕЛЬНОЕ МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ГОРТАНИ И ЛЕГКОГО

[1]БУЗ ВО ВОПБ, Воронеж;
[2]БУЗ ВО ВОКОД, Воронеж

Введение. С определенным допущением можно сказать, что плоскоклеточный рак гортани и легкого представлен разными клеточными популяциями. Это следует, например, из различий в эффективности лучевой и химиотерапии при лечении больных раком гортани и легкого одинакового гистогенеза.

Цель исследования – выявление различий в пролиферации клеток плоскоклеточного рака гортани и легкого.

Материалы и методы. Исследованы опухоли 180 больных плоскоклеточным раком гортани и 160 пациентов с плоскоклеточным раком легкого. После рутинного гистологического исследования и подтверждения диагноза плоскоклеточного рака методом иммуногистохимического анализа срезы части опухолей окрашивали антителами к Ki67 и p53. В готовых препаратах определяли долю позитивных к данным антителам опухолевых клеток.

Результаты. В популяциях исследованных опухолей обеих локализаций имело место практически отсутствие новообразований высокой и низкой степеней дифференцировки. Среди опухолей гортани было 2 случая высокодифференцированного рака и 1 – низкодифференцированного. Среди опухолей легкого выявлены 4 случая рака высокой степени дифференцировки и 2 случая низкой степени дифференцировки. Средняя доля Ki67-положительных клеток составила соответственно 17,5 и 25,0 % в высокодифференцированных новообразованиях гортани и легкого. В низкодифференцированных опухолях гортани и легкого доля Ki67-положительных клеток была равна соответственно 80 и 70 %. При сравнении двух групп, включавших по 15 случаев умеренно-дифференцированного рака гортани и легкого, выявлено, что пролиферативная активность клеток в этих новообразованиях практически не различалась: средний Ki67 при раке гортани составил 49,2 % при разбросе от 30 до 70 %, при раке легкого – 50,2 % (колебания 43–72 %). Экспрессия мутантного гена *p53* имела место во всех исследованных случаях умеренно-дифференцированного рака гортани со средней долей клеток в опухоли 48,9 % (колебания 10–70 %). В 4 из 15 случаев умеренно-дифференцированного рака легкого клетки опухоли не экспрессировали мутантный ген *p53*, а в 11 опухолях среднее количество клеток с его гиперэкспрессией составила 47,1 % (разброс 17–97 %).

Заключение. Среди популяций плоскоклеточного рака гортани и легкого преобладают умеренно-дифференцированные новообразования, в которых нет зависимости интенсивности клеточного деления от локализации опухоли. Популяция умеренно-дифференцированного рака легкого более гетерогенна по способности клеток к p53-опосредованному апоптозу, но в опухолях, где имеются клетки, экспрессирующие этот антиген, доля таких клеток одинакова в новообразованиях обеих локализаций. Отсутствие значимых отличий по параметрам пролиферации клеток при раке гортани и легкого позволяет предположить, что их различная чувствительность к цитотоксическим воздействиям определяется другими характеристиками клеточных популяций.

Е.В. Долгова, Е.А. Поттер, А.С. Проскурина, С.С. Богачев

СВОЙСТВО СТВОЛОВЫХ ИНИЦИИРУЮЩИХ РАКОВЫХ КЛЕТОК ИНТЕРНАЛИЗОВАТЬ ЭКЗОГЕННУЮ ДВУЦЕПОЧЕЧНУЮ ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕИНОВУЮ КИСЛОТУ И ЕГО ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

ФГБНУ ИЦГ СО РАН, Новосибирск

Введение. В настоящее время общепризнанной остается модель строения опухоли, где на вершине иерархической лестницы находятся стволовые инициирующие раковые клетки (СИРК). Основными свойствами, характерными для СИРК, являются самоподдержание в ряду неограниченного числа делений, способность производить коммитированную дочернюю клетку, устойчивость к многократной пересадке с сохранением гистологических характеристик опухоли. Индивидуализация СИРК в массе опухолевых клеток является необходимым условием терапевтического изменения статуса раковой клетки или ее прямой элиминации.

Цель исследования – поиск принципиально нового универсального маркера низкодифференцированных клеток различного генеза, включая СИРК, и характеристика возможных направлений его применения в диагностике и лечении онкологических заболеваний.

Материалы и методы. Экспериментальными моделями исследования являлись мышиная опухоль Кребс-2, а также человеческая глиома. В качестве экзогенной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) использовали меченную флуорофором TAMRA ДНК человеческого *Alu*-повтора. В исследовании использовались современные молекулярные и цитологические методы работ, такие как проточная цитометрия, флуоресцентная и конфокальная микроскопия, а также физиологические методы работы с лабораторными животными.

Результаты. В настоящей работе впервые показано, что в различных сообществах активно пролиферирующих клеток млекопитающих присутствует популяция клеток, способная интернализовать фрагменты двуцепочечной ДНК (TAMRA-позитивные клетки), и что эта популяция в сообществах раковых клеток обладает признаками СИРК. Впервые приводятся данные (на модели опухоли Кребс-2) о том, что совместная обработка цитостатиком циклофосфаном и препаратом двуцепочечной ДНК приводит к эрадикации туморогенных свойств перевиваемого графта,

что связано с удалением популяции клеток, обладающей признаками СИРК. На модели опухолей головного мозга человека показано, что доброкачественные новообразования не содержат TAMRA-позитивных клеток, тогда как в злокачественных опухолях такие клетки детектируются. Показано, что с повышением степени злокачественности опухоли наблюдается тенденция к росту числа СИРК, способных интернализовать экзогенную двуцепочечную ДНК.

Заключение. Обнаруженное свойство СИРК – интернализовать фрагменты двуцепочечной экстраклеточной ДНК естественным механизмом – является перспективной базой как для создания диагностикумов для анализа содержания СИРК, так и для разработки стратегии таргетной терапии при лечении онкологических заболеваний, включая глиомы, направленной на элиминацию СИРК.

Ю.И. Должикова[1], В.А. Даванков[2], М.П. Цюрупа[2], Л.А. Павлова[2], М.В. Киселевский[1]

ПОИСК АЛЬТЕРНАТИВНЫХ ГЕМОСОРБЕНТОВ ДЛЯ ЛИМФОСОРБЦИИ БОЛЬНЫХ С СЕПСИСОМ

[1]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва; [2]ФГУН «ИНЭОС им. А.Н. Несмеянова» РАН, Москва

Введение. Анализ причин смерти онкологических больных выявил, что инфекционные осложнения являлись причиной гибели не менее 1/3 пациентов. Для решения проблем по нивелированию последствий синдрома системной воспалительной реакции организма пациентов внимание было обращено на методы экстракорпоральной детоксикации (ЭКД). В настоящее время лимфосорбция является одним из перспективных методов ЭКД для комплексной терапии сепсиса. Использование существующих устройств приводит к потере целевых молекул и некоторых необходимых организму белков, а также наблюдается недостаточная биосовместимость ряда применяемых сорбентов. Это обосновывает необходимость поиска новых материалов, перспективных для использования в качестве матрицы для лимфосорбции. Вызывают интерес в данном аспекте гемосовместимые сверхсшитые полистиролы, внутренняя удельная поверхность которых порядка 1500 м^2/г и которые, возможно, эффективны для снижения концентрации триггеров воспаления и метаболитов в лимфе.

Цель исследования – оценка перспективности применения сверхсшитого полистирола серии Стиросорб в качестве матрицы устройства для элиминации метаболитов (мочевина, креатинин), бактериального липополисахарида (ЛПС) из лимфы больного с сепсисом *in vitro*.

Материалы и методы. Для исследования был создан макет колонки объемом 100 мл на основе сорбента ряда сверхсшитого полистирола, разработанного в ИНЭОС им. А.Н. Несмеянова. Через этот макет было перфузировано 700 мл лимфы онкологического больного с тяжелым сепсисом со скоростью 80–100 кап/мин. Биохимические параметры лимфы были получены на анализаторе Sapphire 400 (TOKYO BOEKI, Япония). Уровень ЛПС был определен с использованием коммерческих наборов на основе LAL-теста (Hycult Biotechnology, Нидерланды).

Результаты. Анализ лимфы до и после перфузии через макет колонки со Стиросорбом показал снижение уровня ЛПС на 86 %, мочевины – на 20 %, креатинина – на 40 %. Уровень альбумина снизился менее чем на 2 %.

Заключение. Применение сорбента серии Стиросорб в качестве матрицы устройства для элиминации мочевины, креатинина и ЛПС из лимфы больного с сепсисом *in vitro* показало обнадеживающие результаты, которые могут стать основанием для внедрения в клиническую практику сверхсшитых полистиролов и устройств на их основе для ЭКД онкологических больных с сепсисом.

Е.А. Дудко[1], В.Ю. Чернов[2], Т.А. Богуш[1], Н.С. Сапрыкина[1], Ю.Б. Дьякова[1], В.Ю. Кирсанов[1], З.С. Шпрах[1], А.А. Каменский[2], Б.Е. Полоцкий[1], С.А. Тюляндин[1]

ПОВЫШЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ЦИСПЛАТИНА В КОМБИНАЦИИ С ДИГОКСИНОМ

[1]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва; [2]ФГБОУ ВО «МГУ им. М. В Ломоносова», Москва

Введение. Использование гликолиза в качестве основного источника энергии даже в аэробных условиях (эффект Варбурга) является фундаментальным отличием опухолевой клетки от нормальной. Ингибирование гликолиза при воздействии сердечных гликозидов сопровождается повышением цитотоксичности противоопухолевых препаратов в отношении опухолевых клеток *in vitro* – не только чувствительных, но и резистентных.

Цель исследования – оценка модифицирующего воздействия сердечного гликозида дигоксина (Диг) на противоопухолевый эффект цисплатина (ЦП), реализация которого ассоциирована с активностью энергетически зависимых ферментов репарации повреждений дезоксирибонуклеиновой кислоты.

Материалы и методы. Исследование проведено на самках мышей линии CBA/Lac массой тела 20–22 г с внутрибрюшинно (в/б) трансплантированным раком молочной железы Эрлиха, в клетках которого основным путем генерации энергии является гликолиз. Изучено влияние однократного в/б введения сердечного гликозида Диг за 1 ч до в/б введения ЦП на противоопухолевый эффект цитостатика в диапазоне концентраций с линейной зависимостью доза – эффект – 2,5 и 5,0 мг/кг. Статистическую оценку достоверности различий между группами по медиане и средней продолжительности жизни павших мышей проводили с помощью критериев Манна – Уитни и Стьюдента. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты. 1. При введении Диг достигнут противоопухолевый эффект ЦП, превышающий максимально возможный на использованной экспериментальной модели: увеличение продолжительности жизни животных с опухолью на 77 % при дозе ЦП 2,5 мг/кг, что в 2 раза выше эффекта монотерапии цитостатиком в этой дозе, и в 1,5 раза – при дозе ЦП 5,0 мг/кг, которая является максимально эффективной (при дальнейшем повышении дозы ЦП отмечалась гибель мышей от токсичности). В пересчете на дозу цитостатика введение Диг за 1 ч до ЦП привело более чем к двукратному повышению его эффективности.

2. При оценке достоверности выявленных различий показано, что противоопухолевый эффект ЦП при дозах

2,5 и 5,0 мг/кг реализовался с высоким уровнем достоверности ($p < 0,0001$). Высоко достоверными ($p < 0,0001$) были различия при сравнении групп ЦП 2,5 мг/кг и ЦП 2,5 мг/кг + Диг, а также между группами ЦП 2,5 мг/кг + Диг и ЦП 5,0 мг/кг независимо от того, с каким «контролем» проводили сравнение – мыши с опухолью без воздействия или при введении Диг.

Заключение. Диг повышает противоопухолевое действие ЦП более чем в 2 раза в пересчете на дозу цитостатика, что превышает эффект от ЦП, достижимый на использованной экспериментальной модели при монотерапии цитостатиком.

Поддержано грантами РФФИ № 15-04-06991-а и № 16-34-01049 мол-а.

Е.А. Дудко, М.В. Родионова, О.М. Рябинина, А.Н. Гришанина, С.Д. Коломийцев, Н.О. Вихлянцева, Е.А. Богуш, В.Ю. Кирсанов, И.К. Воротников, Т.А. Богуш

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА МЕТОДОВ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОФЛУОРИМЕТРИИ И ИММУНОГИСТОХИМИИ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ЭКСПРЕССИИ ЭСТРОГЕНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ АЛЬФА

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Эстрогеновые рецепторы альфа (ЭРα) – клеточная мишень, которая положила начало развитию современной таргетной терапии, а тамоксифен – первый таргетный препарат, который с 1977 г. до наших дней занимает лидирующую позицию в адъювантной гормональной терапии рака молочной железы (РМЖ). На лечение тамоксифеном отвечают до 20 % пациентов с ЭР-негативными опухолями, а при наличии в опухоли ЭР в 20 % случаев положительный результат терапии отсутствует. Возможным объяснением этого факта могут быть эффекты антиэстрогена, не связанные с его взаимодействием с ЭР, а также ошибки при определении статуса ЭР в опухоли иммуногистохимическим (ИГХ) методом, который рутинно используется в клинике.

Цель исследования – сравнить информативность нового количественного иммунофлуоресцентного метода, ассоциированного с проточной цитофлуориметрией (ПЦФ), со стандартным ИГХ-анализом экспрессии ЭРα.

Материалы и методы. Оценка экспрессии ЭРα проведена в хирургических образцах РМЖ ($n = 60$). Использованы антитела к ЭРα – SP1, ab27614, вторичные – ab98510. Уровень экспрессии ЭРα (количество специфически окрашенных клеток относительно показателя при инкубации с вторичными антителами) анализировали с помощью программы FlowJo 10.0 и статистического критерия Колмогорова–Смирнова. Градация уровня экспрессии маркера: высокий – количество окрашенных клеток в опухоли ≥ 40 %; низкий – < 40 %.

Результаты. 1. В целом по группе при использовании ИГХ-метода и ПЦФ показано совпадение показателей частоты встречаемости ЭРα-негативных (27 %) и ЭРα-позитивных (73 %) опухолей.

2. ИГХ-методом только у 20 % ЭРα-позитивных опухолей выявлен низкий уровень маркера, а у остальных уровень экспрессии ЭРα был более 70 %.

3. При оценке методом ПЦФ у 43 % опухолей уровень экспрессии ЭРα был ≤ 40 % (33,6 ± 4,7 %), а у остальных – > 40 % (53,1 ± 8,8 %).

4. При сравнении экспрессии ЭРα по каждому из образцов показано, что среди опухолей, отнесенных по результатам ИГХ-исследования в группу ЭРα-негативных, методом ПЦФ в 33 % случаев выявлены ЭРα с уровнем экспрессии от 23 до 60 % (43,4 ± 18,3 %), а среди ЭРα-позитивных опухолей, напротив, в 12,5 % случаев ЭРα не определялись.

Заключение. Выявлена дискордантность показателей экспрессии ЭРα в опухоли при оценке ИГХ-методом и ПЦФ. Поскольку статус ЭРα в опухоли является важнейшим ориентиром при выборе тактики лечения РМЖ, а ПЦФ в отличие от полуколичественного ИГХ-анализа позволяет строго количественно определять экспрессию маркера, использование ПЦФ в клинике следует признать предпочтительным, а для верификации молекулярного диагноза при получении отрицательного результата при ИГХ-исследовании – необходимым.

Поддержано РФФИ (гранты №№ 15-04-06991-а и 16-34-01049 мол-а).

Н.П. Ермакова, О.И. Коняева, Н.Ю. Кульбачевская, В.А. Чалей, А.А. Сергеев, К.А. Сережин, В.М. Бухман

ИЗУЧЕНИЕ АЛЛЕРГИЗИРУЮЩИХ СВОЙСТВ ОРМУСТИНА НА МОРСКИХ СВИНКАХ. ОЦЕНКА АНАФИЛАКТОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Новый препарат класса нитрозомочевин – Ормустин синтезирован в ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН. В лаборатории разработки лекарственных форм РОНЦ им. Н.Н. Блохина создана лиофилизированная лекарственная форма Ормустина и проводится ее доклиническое изучение.

Цель исследования – изучение аллергизирующих свойств Ормустина.

Материалы и методы. Исследования проведены на 60 морских свинках-самках массой тела 230–250 г. Ормустин вводили в суммарных дозах: 1 терапевтическая доза (ТД) – 67 мг/кг; 10ТД – 670 мг/кг; 2ТД – 134 мг/кг для морских свинок, пересчитанных с ТД для мышей. Режим и путь введения сенсибилизации: 1-й день – подкожно, 3-й и 5-й дни – внутримышечно. Для сенсибилизации препарат вводили 1 группе животных в разовых дозах, равных 1/3 ТД = 22,3 мг/кг, и 2 другим группам животных в разовых дозах 1/3 10ТД = 223 мг/кг через день. После введения сенсибилизирующей дозы, в 10 раз превышающей терапевтическую, наблюдали гибель всех морских свинок на 3–5-е сутки после последнего введения на фоне проявлений нефротоксичности (граница между корковым и мозговым слоями почек значительно увеличена, вишневого цвета). Поэтому была дополнительно введена группа животных с сенсибилизирующей разовой дозой Ормустина, равной 1/32ТД = 44,66 мг/кг. После сенсибилизации в этой группе наблюдали гибель 3 из 10 морских свинок на 4, 5 и 6-й дни. Для разрешения Ормустин вводили в суммарных дозах 1ТД и 2ТД/кг массы тела морской свинки. Препарат применяли в концентрации 2,45 % в 5 % растворе глюкозы. Разрешение проводили внутрисердечно на 18-й день после окончания сенсибилизации. В качестве контроля использовали 5 % раствор глюкозы и сыворотку крупного рогатого скота. Объемы

вводимых растворов не превышали 1,0 мл на животное при сенсибилизации и при разрешении. Интенсивность реакции оценивали по индексу Weigle.

Результаты. После сенсибилизации животных препаратом в 1ТД выявлено слабое аллергизирующее действие Ормустина, которое выражалось понижением температуры тела (> 1 °С) у 5 из 10 морских свинок. После сенсибилизации животных препаратом в 2ТД Ормустин проявил умеренные аллергизирующие свойства, которые выражались снижением температуры тела (> 2,5 °С) у 6 из 7 морских свинок, умыванием, взъерошенностью шерстного покрова. После сенсибилизации животных 5 % раствором глюкозы при разрешении Ормустином в 2ТД также выявлена слабая аллергическая реакция, которая выражалась в понижении температуры тела (> 1 °С) у 4 из 9 морских свинок.

Заключение. Ормустин обладает умеренными аллергизирующими свойствами.

Н.В. Ефремова, Е.К. Кречина, О.И. Ефимович, Ф.К. Мустафина, А.В. Рассадина

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА

ФГБУ «ЦНИИ стоматологии и челюстно-лицевой хирургии» Минздрава России, Москва

Введение. В связи с высокой распространенностью заболеваний пародонта поиск методов антибактериальной терапии, к которым относится фотодинамическая терапия (ФДТ), является актуальным.

Цель исследования – изучение эффективности ФДТ при лечении воспалительных заболеваний пародонта.

Материалы и методы. Проведено клинико-лабораторное обследование пациентов в возрасте 20–45 лет с воспалительными заболеваниями пародонта, которые были разделены на 2 группы, каждая по 60 человек: 1-я – с генерализованным хроническим пародонтитом (ХП) легкой степени; 2-я – с генерализованным ХП средней степени тяжести. Каждая группа была разделена на 3 подгруппы по 20 человек: в 1-й подгруппе проводили ФДТ с 1 % метиленовым синим; во 2-й – ФДТ с 0,5 % фотодитазином; в 3-й – ФДТ с 1 % толуидиновым голубым. Результаты лечения оценивали с помощью полимеразной цепной реакции.

Результаты. Лечение не отразилось на частоте выявления *A. actinomycetemcomitans* у пациентов 3-й подгруппы. Наилучший эффект был достигнут во 2-й подгруппе. ФДТ у больных 1-й подгруппы не повлияла на частоту идентификации *P. gingivalis*, во 2-й подгруппе она уменьшилась в 6,5 раза, а в 3-й – в 1,5 раза. Частота выявления ДНК *P. intermedia* у пациентов 1-й группы до и после проведенной терапии была статистически недостоверной. Это было связано с отсутствием разницы у больных 1-й и 3-й подгрупп. Тем не менее во 2-й подгруппе были получены хорошие результаты. Такая же разница в 1,5 раза в частоте выявления ДНК *T. forsythia* у пациентов 1-й группы до и после лечения была статистически достоверной. Хотя в 1-й и 3-й подгруппах разница была также статистически недостоверной, у больных 2-й подгруппы *T. forsythia* обнаруживалась в 13 раз реже ($p = 0{,}0001$). Подобная тенденция наблюдалась и у пациентов 2-й группы. Снижение частоты выявления ДНК *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola* после лечения было статистически недостоверным в 1-й и 3-й подгруппах. Во 2-й подгруппе после терапии все микроорганизмы идентифицировались в 2–3 раза реже.

Заключение. Таким образом, лечебные мероприятия, включающие ФДТ с 1 % метиленовым синим, не влияли на частоту выявления пародонтопатогенных видов бактерий у больных ХП легкой и средней степени. ФДТ с 0,5 % фотодитазином привела к значительному снижению бактериальной нагрузки у пациентов всех обследованных групп, в том числе к полной элиминации *P. intermedia* у больных ХП средней степени. В результате ФДТ с 1 % толуидиновым голубым произошло уменьшение частоты выявления пигментообразующих пародонтопатогенных видов бактерий и *T. denticola*. У больных ХП легкой и средней степени тяжести ФДТ с 1 % толуидиновым голубым не оказала влияния на элиминацию *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia* и *T. forsythia* и привела к незначительному снижению частоты идентификации *P. gingivalis* и *T. denticola*.

С.С. Жумакаева[1], Л.Е. Муравлева[1], И.М. Омарова[2], Н.А. Кабилдина[1], О.А. Пономарева[1], Ю.М. Фоменко[1]

ВЛИЯНИЕ АРГЛАБИНА НА ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ И МЕТАБОЛИТЫ ПУРИНОВОГО ОБМЕНА У БОЛЬНЫХ МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

[1]КГМУ, Караганда, Республика Казахстан;
[2]КГП «Областной онкологический диспансер», Караганда, Республика Казахстан

Цель исследования – изучение биохимических показателей крови больных местно-распространенным раком молочной железы (МРРМЖ) при применении арглабина.

Материалы и методы. Объектом исследования являлась кровь 27 больных с узловой формой МРРМЖ (T2N1–3M0, T3–4N0–3M0) с гистологической и иммуногистохимической верификацией в возрасте 30–75 лет. В группу контроля вошли 32 практически здоровые женщины. Больным МРРМЖ проводили 4 курса неоадъювантной монохимиотерапии арглабином (370 мг/м^2, 7 дней) каждые 21 день, радикальную мастэктомию, 4 курса адъювантной химиотерапии арглабином, лучевую терапию и гормонотерапию по показаниям. Всем больным МРРМЖ проведены исследования метаболитов пуринового обмена, внеклеточных нуклеиновых кислот, кислоторастворимой фракции (КРФ).

Результаты. У больных МРРМЖ в плазме крови зафиксировано повышение выше контрольных величин всех пуриновых интермедиатов, кроме мочевой кислоты. Наиболее значимые изменения зарегистрированы в отношении содержания гуанина в крови больных: при IIB стадии – на 31 %, IIIA – на 72 %, IIIB – в 1,97 раза, IIIC – на 24 %. У больных II стадии, получавших арглабин, содержание интермедиатов пуринового обмена уменьшилось и приблизилось к значениям контроля. У больных МРРМЖ зафиксировано достоверное снижение уровня внеклеточных нуклеиновых кислот и КРФ в плазме крови. После применения арглабина при II стадии все показатели имели выраженную тенденцию к снижению, при III стадии

в плазме крови отмечен рост уровня КРФ на 80 %. Содержание внеклеточной РНК в эритроцитах больных РМЖ имеет незначительно выраженную тенденцию к снижению, а уровень внеклеточной ДНК в эритроцитах крови больных сравним с показателем контроля. Монотерапия арглабином способствует более отчетливой нормализации содержания внеклеточных РНК и ДНК в эритроцитах крови больных.

Заключение. У больных МРРМЖ II–III стадии до начала химиотерапии отмечено резкое снижение внеклеточных нуклеиновых кислот и КРФ; монотерапия арглабином сопровождается ростом изучаемых показателей по сравнению с величинами до лечения.

Т.Н. Заботина, О.В. Короткова, А.А. Борунова, Д.В. Табаков, Ш.Г. Хакимова, М.В. Савостикова, И.К. Воротников, З.Г. Кадагидзе

ИММУНОФЕНОТИП ЛИНЕЙНЫХ И МИНОРНЫХ СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ, ИНФИЛЬТРИРУЮЩИХ ОПУХОЛЬ, У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Степень инфильтрации опухоли лимфоцитами сегодня рассматривается как благоприятный прогностический фактор эффективного ответа на проводимое лечение и общей выживаемости больных раком молочной железы (РМЖ), однако их роль в патогенезе рака до сих пор неизвестна.

Цель исследования – провести исследование иммунофенотипа лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль, у первично-операбельных больных РМЖ.

Материалы и методы. Исследованы образцы опухолевой ткани 59 первично-операбельных больных РМЖ. Клеточные суспензии получали путем фрагментации ткани опухолей с использованием Medimachine (BD Biosciences), конгломераты удаляли фильтрацией Filcons, диаметр пор не превышал 50 мкм. Все полученные образцы подвергали цитоморфологическому контролю (цитопрепарат Cytospin, окраска по Лейшману, × 400), оценивали количество и качество опухолевых клеток, наличие лимфоидных элементов. Структуру субпопуляций клеток оценивали по связыванию с моноклональными антителами различной специфичности методом многопараметровой проточной цитометрии.

Результаты. При оценке степени инфильтрации опухолевых образцов лимфоцитами установлено, что лимфоидные $CD45^+$-клетки выявлялись в 100 % случаев методом проточной цитометрии, в то время как при морфологическом исследовании в ряде случаев лимфоидные элементы не были обнаружены. Содержание $CD45^+$-лимфоцитов в полученных суспензиях сильно варьировало – от 0,1 до 28 %, среднее значение составило 3,9 ± 0,7 % (M ± m). Анализ частоты встречаемости образцов опухоли РМЖ с различной степенью инфильтрации показал, что в 50 % случаев содержание $CD45^+$-клеток составило 1,1–9,0 %, в 36,3 % случаев оно оказалось менее 1 %, а в 13,7 % образцов ткани РМЖ количество $CD45^+$-клеток было 10–28 %. Следует заметить, что линейная структура лимфоцитов (T-B-NK) не зависела от общего содержания лимфоидных клеток в ткани опухоли и составила в среднем по группе 86,8 ± 1,8 % Т-клеток с фенотипом $CD45^+CD3^+CD19^-$; 3,29 ± 0,7 % В-клеток с фенотипом $CD45^+CD3^-CD19^+$ и 1,2 ± 0,2 % NK-клеток с фенотипом $CD45^+CD3^-CD16^+CD56^+$. В структуре $CD45^+CD3^+$ Т-клеток соотношение $CD4^+$ и $CD8^+$ составило 1,3 ± 0,1. Эффекторное звено представлено специфическими $CD3^+CD8^+$ цитотоксическими Т-лимфоцитами (41,6 ± 1,8 %). При 4-цветном анализе фенотипа функционально значимых минорных субпопуляций оказалось, что более половины (54,0 ± 3,5 %) CD8 клеток имеют регуляторный фенотип $CD45^+CD8^+CD11b^-CD28^-$, в то время как регуляторные CD4-лимфоциты ($CD45^+CD4^+CD25^{+high}CD127^{+low/neg}$) составляют только 12,8 ± 1,5 %.

Заключение. Иммунофенотип лимфоцитов, инфильтрирующих ткань РМЖ, не зависит от степени инфильтрации опухоли. В структуре лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль, преобладают $CD3^+$ Т-лимфоциты, соотношение CD4/CD8 составляет 1,3 ± 0,1, фенотип эффекторных клеток соответствует цитотоксическим Т-лимфоцитам, регуляторные клетки представлены $CD45^+CD8^+CD11b^-CD28^-$-лимфоцитами, но не $CD45^+CD4^+CD25^{+high}CD127^{+low/neg}$.

М.П. Завелевич[1], А.А. Фильченков[1], С.Д. Завгородняя[2], О.А. Ковалева[1], Т.С. Иванивская[1]

НОВАЯ ПЕРЕВИВАЕМАЯ ЛИНИЯ CAR-1 ЛИМФОИДНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА И ЕЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ЦИТОТОКСИЧЕСКОМУ ДЕЙСТВИЮ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

[1]ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев, Украина; [2]Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины, Киев, Украина

Введение. Исследование чувствительности к цитотоксическому действию противоопухолевых препаратов перевиваемых линий лимфоидных клеток человека и ее связи с характеристиками этих клеток представляет значительный интерес для разработки новых моделей скрининга химиотерапевтических средств.

Материалы и методы. Перевиваемую линию лимфоидных клеток Car-1 получали пассированием первичной культуры мононуклеаров периферической крови больного с хроническим лимфопролиферативным заболеванием в кондиционированной среде. Иммунофенотипирование клеток проводили с использованием авидин-биотинового комплекса со щелочной фосфатазой в качестве ферментной метки и панели моноклональных антител к дифференцировочным антигенам В-лимфоцитов. Кариотип клеток исследовали с помощью стандартных методик. ДНК из клеток выделяли с использованием набора innuPREP Virus DNA Kit (Analityk Jena AC, Германия). Детекцию ДНК вируса Эпштейна – Барр (ВЭБ) проводили методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени с использованием набора «ЭБАРПОЛ» (НПФ «Литех», Россия) на амплификаторе qTOWER 2.2 (Analityk Jena, Германия). В качестве контроля использовали стандартные линии В-лимфобластоидных клеток Raji и Namalwa, происходящие из лимфомы Беркитта и содержащие ДНК ВЭБ. Исследовали кинетику роста и гибели

клеток в культуре в присутствии вепезида или флударабина в стандартных концентрациях.

Результаты. Клетки линии Car-1 обладали фенотипом $CD5^-CD10^+CD19^+CD20^+CD23^+CD38^+CD43^+$, отличались значительной гетерогенностью цитоморфологических признаков. Число хромосом на метафазу колебалось от 22 до 55, модальное число хромосом 46 обнаруживали в 32 % клеток. На 100 митотических клеток полиплоидия составляла 8,7 ± 2,0 %; полиплоидные клетки были представлены три-, тетра- и пентаплоидами. Хроматидные аберрации встречались в 6 % метафаз. В клетках Car-1 обнаружено присутствие ДНК ВЭБ на таком же уровне, как и в клетках Raji. Устойчивость к цитотоксическому действию флударабина фосфата и вепезида у клеток полученной перевиваемой линии была сопоставима с таковой у клеток линии Namalwa.

Заключение. Из мононуклеаров периферической крови больного с хроническим лимфопролиферативным заболеванием была получена новая линия Car-1 лимфоидных клеток человека, содержащих геном ВЭБ, которая может быть использована как для изучения механизмов природной лекарственной устойчивости, так и для скрининга соединений с потенциальной противоопухолевой активностью.

С.Д. Задолинная, П. Штраух, А.А. Абдувалиев, Ю.Ю. Асессорова, В.П. Татарский

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ СВОЙСТВА НОВОГО N-ДИХЛОРАМИННОГО КОМПЛЕКСА МЕДИ

Институт химии Университета Потсдама, Потсдам, Германия

Введение. Использование достижений в области химии, биофизики, фармакологии, иммунологии, клеточной и молекулярной онкологии позволяет оценить проблему химиотерапии опухолей и подойти к направленному синтезу биологически активных соединений. Одним из таких соединений явился комплекс $CuC_{13}H_{19}N_2O_3Cl_3$.

Цель исследования – изучение влияния противоопухолевого препарата на различные внутриклеточные процессы, которые в совокупности приводят в действие триггерные механизмы гибели патологических клеток.

Материалы и методы. Современными методами установлены строение, физико-химические свойства и спектр биологического действия нового комплекса. Исследования соединения *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo* в модельных системах, на культурах нормальных и опухолевых клеток, бактериях, животных-опухоленосителях с различными локализациями опухолевого процесса и онкологических больных с запущенными формами рака показали, что препарат является новым индивидуальным химическим соединением с высоким противоопухолевым и антиметастатическим действием.

Результаты. Полученный парамагнитный комплекс в зависимости от условий среды и клеточной мишени может проявлять активирующее действие (стимуляция аэробного дыхания), прооксидантное токсическое действие (окислительная деградация нуклеиновых кислот) и антиоксидантные способности (тушение активных форм кислорода). Доказанными механизмами действия препарата на опухолевые клетки являются ингибирование гликолиза, фрагментация ДНК и индукция апоптоза. Экспериментальными исследованиями установлены дополнительные свойства препарата: 1) накапливается преимущественно в опухолевой ткани, проявляя селективность действия; 2) нарушает процессы инвазии и адгезии опухолевых клеток и приводит к «капсулированию» опухоли; 3) являясь ловушкой для заряженных частиц, может эффективно использоваться как в сочетанном применении с радиотерапией, так и в качестве средства репарации пострадиационных лучевых поражений; 4) не вызывает резистентности, преодолевая лекарственную устойчивость организма; 5) не оказывает острого патологического влияния на функции печени и почек и не вызывает в органах и тканях специфических глубоких нарушений и длительных изменений в составе периферической крови.

Заключение. Новый противоопухолевый препарат может быть использован при лечении многих онкологических заболеваний (карцином, сарком, лейкозов, лимфом и т. д.).

С.А. Зайцев

ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ *IN VITRO*

ООО «Диатек», Кольцово, Новосибирская область

Введение. Наблюдающийся в последние годы прогресс в снижении смертности от онкологических заболеваний связан как с разработкой новых высокоэффективных лекарственных средств, так и с организацией в развитых странах обширных скрининговых обследований для выявления онкологических заболеваний на ранних стадиях развития. Однако применяемые методы скрининга обладают рядом недостатков: отсутствие универсальных методов, недостаточные чувствительность и специфичность, дороговизна применяемых методик.

Цель исследования – разработка относительно недорогого универсального метода диагностики онкологических заболеваний на ранних стадиях развития с приемлемыми характеристиками чувствительности и специфичности.

Материалы и методы. Клеточная линия рака молочной железы MCF-7 получена из коллекции клеточных культур Института цитологии РАН (Санкт-Петербург). Клинический материал получен у 10 больных раком молочной железы, колоректальным раком и меланомой, находящихся в МБУЗ ГКБ № 1 (Новосибирск). Мононуклеарные клетки (МНК) выделяли стандартным методом из периферической крови пациентов на градиенте фиколла. Индекс цитотоксичности (ИЦ) рассчитывали по выходу лактатдегидрогеназы при совместном культивировании МНК и MCF-7, измеренному согласно инструкции производителя (ЗАО «Вектор-Бест»).

Результаты. Установлено, что у пациентов с онкологическими заболеваниями на I и II стадиях среднее значение ИЦ составляет 45,6 ± 7,3 и достоверно превышает этот показатель у условно здоровых доноров – 5,6 ± 1,5. Чувствительность метода при этом составила 100 % (по 10 пациентам с 3 нозологиями). Специфичность теста (по ИЦ 250 условно здоровых доноров) составила 92 % по ложноположительным результатам 1-го рода (определялись по снижению ИЦ при последующих измерениях, в динамике) и свыше

99 % по ложноотрицательным результатам 2-го рода (истинно ложноположительным результатам) Причины, приводящие к появлению ложноположительных результатов 1-го рода, многообразны и связаны с возмущениями иммунной системы вследствие острых воспалительных (инфекционных) заболеваний, аллергических проявлений, острого стресса и ряда других факторов. Наблюдающееся различие в уровне ИЦ для больных и условно здоровых доноров, вероятно, связано с многократно отмечавшимся в литературе эффектом активации натуральных киллеров лимфогенактивированными киллерами, приводящим к значительному (в разы) увеличению их цитотоксического потенциала.

Заключение. Полученные результаты указывают на принципиальную возможность использования предложенного способа для диагностики онкологических заболеваний различной нозологии на ранних стадиях развития. Необходимы дальнейшие исследования на расширенном спектре нозологий на увеличенных выборках пациентов для определения реальной чувствительности метода.

А.А. Занина[1], Е.А. Саратовских[2], Б.Л. Психа[2], Н.А. Санина[2]

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА – ДОНОРОВ NO С ФОСФОЕНОЛПИРОВИНОГРАДНОЙ КИСЛОТОЙ

[1]Факультет фундаментальной физико-химической инженерии ФГАОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва
[2]ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область

Введение. На основе нитрозильных комплексов железа – NO-доноров могут быть созданы потенциальные лекарственные препараты, обладающие способностью направленной доставки NO к биологическим мишеням. Известно, что NO инактивирует глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу, блокируя этим гликолитический синтез аденозинтрифосфата и клеточное, митохондриальное дыхание. Поскольку раковые клетки обладают ускоренным темпом гликолиза по сравнению со здоровыми, для нахождения путей его торможения исследуют метаболизм фосфоенолпировиноградной кислоты (ФЕП) и гликолитических ферментов. Установлено, что ФЕП является мощным ингибитором ферментов гексокиназы, фосфоглюкоизомеразы, фосфофруктокиназы и альдолазы.

Цель исследования – изучение реакционной способности потенциального лекарственного препарата онкологической направленности – тионитрозильного комплекса железа (ТНКЖ), донора монооксида азота, в отношении ФЕП.

Материалы и методы. Использовали ФЕП чистоты 99 % производства фирмы Sigma, без дополнительной очистки. Комплекс ТНКЖ общей формулы $Na_2[Fe_2(S_2O_3)_2(NO)_4]\cdot 4H_2O$ синтезирован согласно методике Н.А. Саниной и соавт. [Координационная химия 2005;31(5):323]. В реакции использовали эквимолярные (10^{-2} М) растворы ФЕП и ТНКЖ в бидистиллированной воде. Электронные спектры регистрировали на спектрофотометре Perkin Elmer UV–VIS Spectrometer Lambda EZ 210 (США). Инфракрасные спектры регистрировали на инфракрасном Фурье-спектрометре FT-IR ALPHA (4000–500 $см^{-1}$) (Bruker, Германия). Измерения выполняли в водных растворах в капле между стеклами ZnSe при 20 °С на воздухе. Масс-спектры снимали на жидкостном хромато-масс-спектрометре LCMS 20–20 (Shimadzu, Япония) без разделения на колонке. Тип ионизации – электроспрей. Масс-анализатор квадрупольный (Q). Диапазон измеряемых массовых чисел от 10 до 2000 m/z. Разрешение масс-анализатора – 0,6. Элюент – ацетонитрил/вода в соотношении 1:1.

Результаты. В системе протекают следующие процессы: 1) диссоциация ТНКЖ на 2 молекулы ДНИКтио; 2) молекула ДНИКтио взаимодействует с молекулой ФЕП с образованием [ФЕП-ДНИКтио], появляется промежуточный продукт – молекулярный ион с массовым числом 318 m/z. Далее от этого соединения отсоединяются поочередно группы NO и, наконец, $[SO_3]^-$. Образуется продукт реакции [S-Fe-ФЕП]; 3) ион $[O_3S\text{-}S\text{-}Fe]^-$, являющийся частью ДНИКтио и образовавшийся по мере диссоциации ТНКЖ, вступает во взаимодействие с ФЕП с образованием того же промежуточного продукта реакции $[O_3S\text{-}S\text{-}Fe\text{-}ФЕП]$, стабилизирующегося в виде [S-Fe-ФЕП].

Заключение. В результате реакции между ФЕП и ТНКЖ образуется новое соединение за счет образования связи железо–кислород. С помощью масс-спектрометрии установлены массы продуктов реакции. Предложены гипотетическая схема протекания реакции и строение образующихся продуктов реакции.

Н.А. Зефиров, И.В. Кузнецова, А.А. Алексеев, Г.А. Шипунов, Ю.А. Пикулина, Е.В. Нуриева, О.Н. Зефирова

АНАЛОГИ N-(7-АДАМАНТ-2-ИЛОКСИ-7-ОКСООКТАНОИЛ)-N-ДЕЗАЦЕТИЛКОЛХИЦИНА (ТУБУЛОКЛАСТИНА) С ВАРИАЦИЯМИ ЛИНКЕРА И КАРКАСНОЙ ГРУППИРОВКИ

ФГАОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва

Введение. Колхицин (алкалоид *Colchicum speciosum*) обладает высокой противоопухолевой активностью за счет взаимодействия с определенным доменом белка тубулина. Ранее авторами получено производное колхицина – N-(7-адамант-2-илокси-7-оксооктаноил-N-дезацетилколхицин (тубулокластин), проявившее высокую цитотоксичность (концентрация полумаксимального ингибирования (IC_{50}) = 6–8 нМ) по отношению к различным типам опухолевых клеток и способное в низких дозах приводить к значимому и достоверному увеличению продолжительности жизни мышей с трансплантированным лимфолейкозом P388. В экспериментах *in vitro* была обнаружена способность тубулокластина и некоторых его аналогов вызывать образование кластеров тубулина уникальной морфологии.

Цель исследования – синтез новых аналогов тубулокластина с разнообразными вариациями линкера и адамантановой группировки, изучение их цитотоксичности и эффекта на микротубулярную сеть по отношению к клеткам карциномы легких человека A549.

Материалы и методы. Методом амидирования моноэфиров двухосновных кислот с замещенными каркасными или мостиковыми спиртами N-дезацетилколхицином (синтезированным в 3 стадии из колхицина) в присутствии N-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолина получена серия из 15 аналогов тубулокластина. Определение цитотоксичности проведено в стандартном колориметрическом тесте с 3-(4,5-диметилтиазолил-2)-2,5-дифенил-2H-

тетразолилбромидом (MTT) по отношению к культуре клеток карциномы легких человека A549 (CCL-185). Эффект на микротубулярную сеть тех же клеток определен иммунофлуоресцентным методом с использованием моноклональных антител мышей к α-тубулину (Sigma, США) и флуоресцентно меченных AlexaFlour488 козьих вторичных антител к иммуноглобулинам мышей (Invitrogen, Германия).

Результаты. Аналоги тубулокластина с модифицированным адамантановым фрагментом проявляют цитотоксичность в наномолярном интервале концентраций, причем большинство из них более активны (IC_{50} = 6 – 21 нМ), чем колхицин (IC_{50} = 27 ± 2 нМ). Гидрофобные и объемные заместители в адамантане независимо от их расположения мало влияют на величину цитотоксичности, которая остается во всех случаях высокой. Уменьшение активности производного аминоадамантана (IC_{50} = 400 ± 20 нМ), по-видимому, связано с высокой степенью его ионизации и низкой способностью проникновения в клетку. Все соединения данной серии проявляют сильный кластеризующий эффект. Цитотоксичность производных тубулокластина с модифицированным линкером зависит от числа метиленовых групп в различных фрагментах цепи.

Заключение. Для ряда аналогов тубулокластина с вариациями каркасной группировки продемонстрировано усиление цитотоксичности по отношению к клеткам карциномы легких A549 по сравнению с колхицином.

Работа поддержана грантами РФФИ (№ 15-03-04894) и РАН (ОХНМ 9).

С.В. Иванов, В.М. Симонов, Р.Л. Анисимов, А.А. Пискунов, Г.Н. Порошин, Е.В. Сазонова, И.П. Фабричный, С.Г. Аббасова, А.П. Карпов

РАЗРАБОТКА ГОМОЛОГИЧНОЙ МОЛЕКУЛЫ ИННОВАЦИОННОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ БИСПЕЦИФИЧНОГО АНТИТЕЛА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ В-КЛЕТОЧНЫХ ЛИМФОМ С ЦЕЛЬЮ ПРОВЕДЕНИЯ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ НА МЫШАХ

ООО «МБЦ «Генериум», Москва

Введение. Несмотря на достигнутые успехи в лечении В-клеточных лимфом, потребность в разработке новых препаратов и подходов для их лечения остается довольно острой. Инновационный отечественный препарат нового поколения GNR-047 на основе биспецифичных моноклональных антител открывает новые перспективы для успешного лечения В-клеточных лимфом, устойчивых к стандартной таргетной терапии. Препарат GNR-047 связывается с рецептором CD3 Т-клеток и с рецептором CD19 опухолевых В-клеток, что приводит к их физическому сближению, в результате которого формируется иммунологический синапс, приводящий к лизису опухолевых $CD19^+$-клеток. Ввиду отсутствия релевантного вида животного, необходимого для проведения токсикологических исследований антитела GNR-047, была инициирована разработка его мышиного гомолога. Настоящая работа посвящена получению образца биспецифичного антитела, связывающегося с мышиными рецепторами CD3 и CD19, и изучению его свойств *in vitro*.

Цель исследования – разработка мышиного гомологичного биспецифичного анти-CD3-анти-CD19-антитела и его характеристика *in vitro*.

Материалы и методы. Дизайн гена гомолога выполнен в соответсвии с дизайном гена биспецифичного антитела GNR-047. Все работы, связанные с получением образца гомологичного антитела, выполняли в соответствии с внутренними операционными процедурами. Связывание гомологичной молекулы с рецепторами CD3 и CD19 на поверхности клеток мышиных линий Bcl-1 и ТК-1, клеток крови и селезенки мышей контролировали методом проточной цитометрии. Специфическую активность гомолога определяли в тесте антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (ADCC).

Результаты. При использовании последовательностей антител, специфичных к мышиным рецепторам CD3 и CD19, проведен дизайн гена гомологичного биспецифичного антитела. Сконструированы экспрессионные векторы с синтетическим целевым геном. Образец мышиного гомолога соответствующего качества получен в результате хроматографического выделения из культуральной жидкости стабильно трансфицированных клеток CHO. Показано связывание гомолога с рецепторами CD3 и CD19 на поверхности клеток мышиных линий Bcl-1 и ТК-1, лимфоцитов и спленоцитов мышей. Гомологичное мышиное антитело обладает соответствующей разрабатываемому препарату высокой ADCC-активностью при использовании спленоцитов мыши в качестве эффекторных клеток.

Заключение. Получен и охарактеризован образец мышиного биспецифичного анти-CD3-анти-CD19-антитела. Данные проведенных исследований свидетельствуют, о том, что полученное гомологичное биспецифичное антитело по своим *in vitro* характеристикам соответствует о том, что разрабатываемому препарату GNR-047 и может быть использовано для проведения токсикологических исследований на мышах.

А.В. Ивличев, Д.А. Мудрак, Н.А. Наволокин, Г.А. Афанасьева, С.А. Тычина, М.О. Корчаков, Н.В. Полуконова, А.Б. Бучарская, Г.Н. Маслякова

АКТИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ ФЛАВОНОИДСОДЕРЖАЩЕГО ЭКСТРАКТА БЕССМЕРТНИКА ПЕСЧАНОГО НА ФОНЕ ПЕРЕВИВАЕМОГО РАКА ПЕЧЕНИ РС-1

ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов

Цель исследования – изучить влияние флавоноидсодержащего экстракта бессмертника песчаного на активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) в эксперименте *in vivo* на лабораторных крысах с перевитым раком печени.

Материалы и методы. Сырье собрано на территории Саратовской области, экстракт бессмертника получен авторским способом (патент № 2482863). Дизайн эксперимента: животные с перевитым раком печени РС-1 были разделены на 2 группы. Первая – группа сравнения с опухолью без воздействия экстракта; вторая группа – экспериментальная с однократным пероральным введением экстракта бессмертника песчаного через 1 мес после пере-

вивки опухоли. Животных выводили из эксперимента путем декапитации, анализ содержания гидроперекисей липидов и молекул средней массы (МСМ) проводили в сыворотке крови стандартными спектрофотометрическими методами.

Результаты. При пероральном введении экстракта бессмертника животным с опухолью отмечали уменьшение МСМ и гидроперекисей липидов в сыворотке крови относительно соответствующих показателей группы сравнения, что свидетельствует о подавлении активности ПОЛ и снижении выраженности аутоинтоксикации.

Заключение. Пероральное введение экстракта бессмертника белым крысам с перевитым раком печени РС-1 сопровождается уменьшением активности ПОЛ, что подтверждает перспективность дальнейшей детализации механизмов антиоксидантного эффекта растительных экстрактов, содержащих флавоноиды.

Е.В. Игнатьева, И.В. Ярцева, Н.А. Дмитричева, Е.В. Санарова, И.Д. Гулякин, В.А. Еремина, Н.И. Тихонова, З.С. Шпрах

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ЛХС-1208

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. ЛХС-1208 – препарат из класса индолокарбазолов, впервые синтезированный в лаборатории химического синтеза НИИ ЭДиТО. Разработка лекарственной формы (ЛФ) ЛХС-1208 потребовала нестандартных решений, так как фармацевтическая субстанция практически нерастворима в воде. Из ряда предложенных моделей ЛФ, отличающихся составом и содержанием вспомогательных веществ, выбрана оптимальная, в состав которой включен диметилсульфоксид (ДМСО).

Цель исследования – стандартизация лиофилизированной ЛФ ЛХС-1208.

Материалы и методы. Образцы ЛФ ЛХС-1208 исследовали посредством гравиметрии, спектрофотометрии, поляриметрии, потенциометрии, тонкослойной хроматографии.

Результаты. Анализ проводили по следующим критериям: описание, растворимость, средняя масса содержимого флакона и отклонение от средней массы, подлинность, прозрачность раствора и испытание на отсутствие механических примесей, pH раствора, содержание влаги, количественное определение. ЛФ ЛХС-1208 представляет собой сухую пористую массу желтого цвета. Подлинность подтверждали спектрофотометрически, а также методом тонкослойной хроматографии. Средняя масса содержимого флакона варьировала от 0,62 до 0,76 г; отклонение от средней массы не превышало ±5,0 %. Растворы содержимого флакона в 20 мл воды были прозрачны, а значения pH варьировала от 3,5 до 4,5. Потеря в массе при высушивании над фосфора пентоксидом при комнатной температуре и остаточном давлении 5 мм рт. ст. не превышала 7,0 %. Как указывалось выше, в состав исследуемой ЛФ включен ДМСО, который является единственным компонентом ЛФ, содержащим серу. Для количественного определения ДМСО в препарате был использован метод определения серы по Шенигеру. Содержание ДМСО в ЛФ составило 15,0–17,0 %. Для количественного определения ЛХС-1208 в ЛФ была применена спектрофотометрическая методика с использованием стандартного образца. Содержание действующего вещества в 1 флаконе находилось в пределах от 8,1 до 9,9 мг.

Заключение. Выбраны критерии качества и разработаны методики их определения для стандартизации ЛХС-1208, лиофилизата для приготовления раствора для инъекций 9 мг.

Е.В. Игнатьева, Н.А. Дмитричева, И.В. Ярцева, М.А. Барышникова, Н.А. Машалова, Л.Л. Николаева, З.С. Шпрах

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОРМУСТИНА В ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Ормустин – оригинальный отечественный препарат из класса нитрозоалкилмочевин, синтезированный в ИОС УрО РАН. Учеными РОНЦ им. Н.Н. Блохина разработана лиофилизированная лекарственная форма (ЛФ) Ормустина.

Цель исследования – совершенствование методики количественного определения содержания Ормустина в ЛФ и технологическом концентрате.

Материалы и методы. Субстанция и ЛФ Ормустина изучались методом спектрофотометрии.

Результаты. Для количественного определения содержания Ормустина в технологическом концентрате и ЛФ предложена спектрофотометрическая методика прямого определения вещества с использованием стандартного образца (СО). В электронном спектре поглощения Ормустина в области от 200 до 450 нм наблюдаются максимумы при длинах волн: 229 ± 2 нм и 396 ± 2 нм. Максимум при длине волны 229 ± 2 нм наиболее интенсивный и позволяет работать при низких концентрациях действующего вещества, что важно, поскольку Ормустин плохо растворим в воде и спирте этиловом 96 %. Ранее была разработана методика определения Ормустина при длине волны 229 ± 2 нм. В качестве СО использовали субстанцию, из которой произвели серии испытуемой лекарственной формы. Однако повидон, который составляет значительную часть ЛФ по массе, имеет собственное поглощение в данной области спектра и мешает определению Ормустина. При выполнении данного варианта методики важно четко соблюдать концентрацию повидона в СО и растворе сравнения, что существенно усложняет подготовку пробы и увеличивает время проведения анализа. В связи с этим предложен другой вариант методики, где в качестве аналитического используется максимум поглощения при длине волны 396 ± 2 нм. Для увеличения растворимости основного вещества и достижения оптимальной концентрации раствора в качестве растворителя использована кислота хлористоводородная 0,01 М. Вспомогательные вещества, входящие в состав ЛФ, не поглощают в этой области спектра и не мешают определению активного вещества. Это позволяет использовать для раствора сравнения растворитель. Интенсивность поглощения растворов ЛФ в данном максимуме подчиняется закону Бугера–Ламберта–Бера в диапазоне концентраций 0,75–2,5 мг/мл в пересчете на Ормустин. Разработанная методика обладает достаточной точностью

и воспроизводимостью. Относительная ошибка определения не превышает 2,0 %.

Заключение. Разработан новый вариант методики количественного определения основного действующего вещества в ЛФ Ормустина для включения в проект фармакопейной статьи предприятия.

Е.В. Исаева, Е.Е. Бекетов, С.Н. Корякин, М.В. Трошина, С.Е. Ульяненко

ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ ЗОЛОТОСОДЕРЖАЩЕГО НАНОКОМПОЗИТА НА ОСНОВЕ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ *IN VITRO*

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ НМИРЦ Минздрава России, Обнинск

Введение. Исследования, направленные на развитие фотон-захватной терапии, интенсивно проводятся в последние годы. Это касается синтеза новых соединений для проявления фотон-захватных реакций, определения цитотоксичности предлагаемых веществ, проведения радиобиологического тестирования на клеточных культурах.

Цель исследования – определение цитотоксичности золотосодержащего соединения на основе гиалуроновой кислоты и меланина и подбор оптимальных концентраций золота для экспериментальной фотон-захватной терапии в исследованиях *in vitro*.

Материалы и методы. Цитотоксичность нанокомпозита с содержанием золота 20,8 ± 0,2 %, предоставленного компанией «Мартинекс» (Москва), оценивали по торможению пролиферативной активности клеток мышиной меланомы B16. Исследуемые концентрации золота – 50, 100, 200, 400 и 800 мкг на 1 мл питательной среды. Также клетки меланомы B16, культивируемые с добавлением нанокомпозита в концентрациях 50 и 100 мкг золота на 1 мл среды и в его отсутствие, подвергали рентгеновскому облучению (4 Гр). Облучение проводили на установке для радиационной обработки крови «СОУК». Источники излучения – 2 рентгеновские трубки, установленные в излучателях РАП 220–5, напряжение на аноде – 180 кВ. Мощность дозы облучения – 1,3 Гр/мин. После облучения определяли клоногенную активность клеток.

Результаты. Установлено, что добавление золотосодержащего соединения в питательную среду оказывает влияние на пролиферацию клеток меланомы B16. Дозы золота 50 и 100 мкг/мл среды не вызывают выраженного торможения пролиферативной активности: число делений клеток в контроле и в опытных группах находятся в пределах 3,4–3,8. В диапазоне концентраций золота 200 и 400 мкг/мл среды проявлялись цитостатические свойства изучаемого нанокомпозита. С увеличением концентрации золота до 800 мкг/мл среды отмечено почти полное подавление пролиферации клеток – цитотоксические свойства. Облучение клеток меланомы B16 в дозе 4 Гр вызывает их частичную гибель (выживаемость почти в 4 раза ниже, чем в необлученном контроле). Добавление золота в питательную среду за 24 ч до облучения в концентрации 50 мкг/мл среды не влияет на этот показатель. Введение золота в среду в концентрации 100 мкг/мл среды приводит практически к полному подавлению жизнеспособности клеток: выживаемость составила 5 % от группы необлученного контроля и была в 5 раз ниже, чем в случае облучения без присутствия золота в питательной среде или при его концентрации 50 мкг/мл среды.

Заключение. Результаты исследования на клетках меланомы B16 мышей позволили установить концентрацию золота, не обладающую цитотоксическим действием и в то же время позволяющую существенно повысить канцерогенную эффективность рентгеновского облучения без увеличения физической дозы.

Исследования проведены при финансовой поддержке РФФИ (проект № 14-44-03084).

А.В. Калугин[1], Д.В. Новиков[1], Н.Р. Хилал[1], К.А. Шахова[2], Н.Н. Гурина[1], Е.Ю. Конторщикова[3], М.Е. Мамаева[4], В.В. Новиков[1]

ЭКСПРЕССИЯ МАТРИЧНЫХ РИБОНУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ TRAG3 И HAGE В ОПУХОЛЕВЫХ ОЧАГАХ ПРИ РАКЕ ЭНДОМЕТРИЯ

[1]ФГАОУ ВО «ННГУ им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород
[2]ГБОУ ВПО НижГМА Минздрава России, Нижний Новгород
[3]ГБУЗ НО «НОКБ им. Н.А. Семашко», Нижний Новгород
[4]ФБУЗ ПОМЦ ФМБА России, Нижний Новгород

Введение. В России заболеваемость злокачественными новообразованиями женской репродуктивной системы ежегодно увеличивается. Рак эндометрия (РЭ) занимает 1-е место среди всех новообразований женской половой системы. В настоящее время существует потребность в простых и доступных методах ранней диагностики и оценки эффективности терапии онкологических заболеваний. Для разработки таких методов могут быть использованы тесты на экспрессию раково-тестикулярных (cancer-testis, CT) генов. Экспрессируются CT-гены в иммунопривилегированных тканях и стволовых клетках опухолей.

Цель исследования – изучение особенностей экспрессии матричных рибонуклеиновых кислот (мРНК) TRAG3 и HAGE в опухолевых очагах при РЭ.

Материалы и методы. Периферическую кровь 5 клинически здоровых доноров и опухолевые очаги 22 больных РЭ тестировали на экспрессию мРНК TRAG3 и HAGE с помощью метода полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). Результаты ОТ-ПЦР оценивали методом электрофореза в агарозном геле с бромистым этидием.

Результаты. В образцах периферической крови здоровых доноров мРНК CT-генов не выявлено. Суммарная частота обнаружения мРНК TRAG3 и HAGE в опухолевых очагах больных РЭ составила 64 % (14 из 22 образцов). В 13 (59 %) образцах опухолей была обнаружена мРНК TRAG3, в 8 (36 %) – мРНК HAGE. В 7 образцах опухолей была выявлена мРНК 1 CT-гена, в 7 образцах – мРНК TRAG3 и HAGE одновременно. При опухолевом росте в пределах эндометрия мРНК TRAG3 была обнаружена в 1 из 6 образцов, мРНК HAGE – не обнаружена. При инфильтративном росте опухоли до половины толщины миометрия мРНК TRAG3 и HAGE были выявлены в 5 из 8 образцов. При опухолевом росте в половину толщины миометрия и более мРНК TRAG3 детектировалась в 7 из 8 образцов, мРНК HAGE – в 3 из 8 образцов. Следует отметить,

что в 58 % (7 из 12) опухолей высокодифференцированного РЭ и в 56 % (5 из 9) опухолей умеренно-дифференцированного РЭ обнаружена мРНК TRAG3. мРНК HAGE детектировалась в 33 % (4 из 12) опухолей высокодифференцированного РЭ и в 44 % (4 из 9) опухолей умеренно-дифференцированного РЭ. В 1 образце опухоли низкодифференцированного РЭ обнаружена только мРНК TRAG3.

Заключение. Таким образом, в опухолевых очагах больных РЭ нами впервые были выявлены мРНК TRAG3 и HAGE. При прогрессии инфильтративного роста опухоли наблюдается тенденция к повышению частоты обнаружения мРНК TRAG3 и HAGE в опухолевых очагах больных РЭ.

В.Н. Капинус, М.А. Каплан, Е.В. Ярославцева-Исаева, И.С. Спиченкова

ВОЗМОЖНОСТИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПРИ МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННОМ ЭПИТЕЛИАЛЬНОМ РАКЕ КОЖИ

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ НМИРЦ Минздрава России, Обнинск

Введение. Несмотря на современные методы диагностики эпителиальных опухолей кожи, в клинической практике нередко встречаются обширные местно-распространенные новообразования, при которых выбор эффективного метода лечения является достаточно сложным. Фотодинамическая терапия (ФДТ) существенно расширила возможности органосохраняющих методов, позволяющих качественно улучшить результаты лечения и реабилитации больных, но традиционно считается, что она может быть эффективна только при лечении опухолей небольших размеров.

Цель исследования – оценка эффективности ФДТ с фотосенсибилизатором (ФС) «Фотолон» у больных местно-распространенным базально-клеточным и плоскоклеточным раком кожи.

Материалы и методы. В МРНЦ им. А.Ф. Цыба в период с 2010 по 2015 г. ФДТ была проведена 166 больным базально-клеточным и плоскоклеточным раком кожи в возрасте от 35 до 88 лет; средний возраст 65,3 ± 1,4. У 112 (67,5 %) пациентов в анамнезе была сопутствующая терапевтическая патология. Все новообразования подверглись морфологической верификации: у 140 (84,3 %) пациентов диагностирован базально-клеточный рак кожи и у 26 (15,7 %) – плоскоклеточный. По распространенности на момент обращения у 130 (78,3 %) больных размеры опухолевых образований были от 3,0 до 5,0 см в диаметре, а у 36 (21,7 %) пациентов имелись обширные новообразования более 5,0 см. Кроме того, 43 (25,9 %) пациента были ранее лечены, т. е. имел место неполный регресс опухоли или ее рецидив. Для ФДТ использовали ФС «Фотолон» в терапевтических дозах, в качестве источника лазерного света – аппарат «Латус-2» (662 нм). Световая доза сеанса ФДТ варьировала от 50 до 300 Дж/см^2. Малые световые дозы и повторные сеансы для поэтапного разрушения опухоли использовали у пожилых и соматически отягощенных пациентов, что позволяло сделать процедуру ФДТ удовлетворительно переносимой для общего состояния больных.

Результаты. Полная регрессия опухолевых очагов была зарегистрирована у 146 (88,0 %) из 166 больных, частичная регрессия – у 16 (9,6 %) пациентов, стабилизация в течение 3–6 мес – у 4 (2,4 %) пациентов с обширными образованиями более 12,0–15,0 см в диаметре, что позволило значительно уменьшить объем опухолевых масс, купировать болевой синдром и улучшить качество жизни. После ФДТ заживление обширных образований происходило первичным натяжением раны в оптимальные сроки. На сроках наблюдения от 6 мес до 5 лет у 38 (22,3 %) из 166 пациентов были диагностированы локализованные рецидивы заболевания, на которые были проведены повторные курсы ФДТ или лучевая терапия. Среднее время до появления рецидива заболевания составило 29,2 ± 4,1 мес.

Заключение. Методика ФДТ может быть использована как достаточно эффективный органосохраняющий способ лечения местно-распространенных форм базально-клеточного и плоскоклеточного рака кожи, применение ее возможно как по радикальной программе, так и в паллиативных целях.

В.И. Карасева, Т.В. Осипова

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ ИММУНОТЕРАПИЯ НА ОСНОВЕ РЕАКЦИИ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЗАМЕДЛЕННОГО ТИПА

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Установлено, что классическая иммунная реакция воспаления гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), искусственно индуцированная внутри опухоли, может быть использована в иммунотерапии для ее элиминации. Так как уровень противоопухолевого иммунитета коррелирует с интенсивностью ГЗТ, необходимо находить средства и способы управления ею.

Цель исследования – поиск средств и способов воздействия на интенсивность ГЗТ. Были использованы данные собственных исследований механизма регуляции реакции ГЗТ антигенами II класса главного комплекса гистосовместимости (ГКГ) (I-A-молекулами), в результате которых был выявлен парадоксальный разнонаправленный контроль реакции этими молекулами. Используя агенты, влияющие на уровень их экспрессии, и посредством точечного вмешательства в механизм реакции удалось добиться повышения интенсивности ГЗТ в несколько раз.

Материалы и методы. Описанный выше факт был использован нами в разработке 2 способов экспериментальной иммунотерапии карциномы Льюиса у мышей линии BDF1. Внутри опухоли была индуцирована ГЗТ к лабораторному антигену – овальбумину (ОА), которую стимулировали с учетом разнонаправленности течения реакции точечно либо аспирином, опосредованно повышающим экспрессию I-A-молекул, либо подавляющим ее никотинамидом.

Результаты. Установлено, что лабораторная модель ГЗТ к ОА, перенесенная без изменения в терапевтическую модель с перевиваемой опухолью, обеспечивает торможение ее роста на 81,5 % при стимуляции ГЗТ аспирином (1-й способ) и на 86,5 % с никотинамидом (2-й способ) по сравнению с контролем. Представленный метод управления реакцией может быть применен в дальнейшем в иммунотерапии с заменой ОА на вакцины, к примеру бациллу Кальметта–Герена, или опухолеспецифические антигены.

Заключение. Разработана экспериментальная модель иммунотерапии с учетом разнонаправленного контроля ГЗТ I-A-антигенами. Несоблюдение правил разнонаправленности течения реакции может приводить впоследствии либо к слабому терапевтическому эффекту, вплоть до его полного отсутствия, либо к усилению роста опухоли. Можно предположить, что наблюдаемая непредсказуемость иммунотерапии является следствием использования препаратов без учета их влияния на экспрессию антигенов II класса ГКГ. Согласно данным литературы, к увеличивающим экспрессию агентам кроме аспирина относятся: индометацин, интерферон λ, интерлейкин 2, 4, 6, антигены, адъюванты и т. д., а к подавляющим ее – интерферон α и β, кортикостероиды, ультрафиолетовое и рентгеновское облучение, фактор некроза опухоли, моноклональные антитела, простагландин Е2 и многие другие. Изучение их влияния на иммунный ответ помогло бы использовать применяемые препараты с бóльшим эффектом. Необходимо отметить также, что лабораторная модель реакции ГЗТ *in vitro* к определенному антигену с иммунными клетками больного могла бы служить прогностическим и сопутствующим лечению тестом, что позволило бы добиться большей предсказуемости в иммунотерапии.

Г.И. Кирьянов[1], В.Ю. Поляков[1], Л.Н. Кинцурашвили[1], В.П. Герасименя[2], С.В. Захаров[2], Т.И. Милевич[3]

ДЕЙСТВИЕ АКТИВНОГО ВЕЩЕСТВА (ДЕЗМЕТИЛИНЦИСТЕРОЛ) ЭКСТРАКТА МИЦЕЛИЯ ВЕШЕНКИ НА ЦИТОКИНЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТОК

[1]НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва;
[2]ООО «Инбиофарм», Москва;
[3]ГНУ ИР НАН Беларуси, Гомель, Республика Беларусь

Введение. Химически чистые биологически активные вещества, выделенные из базидиального гриба *Pleurotus ostreatus* различными методами фракционирования экстракта с использованием стратегии двухфазной системы растворителей и последующим скринингом экстрактов с помощью HPLC, рассматриваются как новые перспективные противоопухолевые препараты, не оказывающие побочного токсического действия на организм больного.

Цель исследования – оценить *in vitro* действие идентифицированного химически чистого активного вещества – дезметилинцистерол (ДМИ), впервые выделенного из водно-этанольного экстракта мицелия вешенки – штамм *Pleurotus ostreatus* 1137, ВКПМ, F-819 (патент РФ № 2487930 от 19.06.2012), на пролиферацию и индукцию апоптоза в популяции трансформированных клеток HeLa.

Материалы и методы. Исследование выполнено на популяции трансформированных клеток HeLa. Для оценки индивидуального действия ДМИ в среду культивирования (10 мл среды) добавляли по 100 мкл раствора ДМИ в этаноле в концентрациях 10, 25, 50, 100, 200 и 500 мкг/мл. Таким образом, конечные концентрации ДМИ в культуральной среде составляли соответственно 0,1; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 и 5,0 мкг/мл среды. В качестве контроля использовали интактные клетки и клетки, инкубируемые в среде с добавлением 1 % этанола, что соответствует содержанию этанола во всех остальных точках. Контрольные и экспериментальные клетки инкубировали с препаратом ДМИ в течение 8 ч, фиксировали параформальдегидом, окрашивали гематоксилином или флуорохромом Хехст и заключали в мовиол по стандартной методике. Подсчет количества делящихся и апоптотических клеток проводили в микроскопе. В каждом препарате ДМИ было проанализировано не менее 3000 клеток.

Результаты. В популяции контрольных клеток HeLa наряду с активно пролиферирующими всегда присутствуют апоптотические клетки, количество которых может незначительно меняться в зависимости от штамма и времени культивирования. В условиях эксперимента через 8 ч после инсталляции в препарате ДМИ доля пролиферирующих и апоптотических клеток существенно не изменяется при концентрациях ДМИ от 0,1 до 1,0 мкг/мл. В концентрации 2,0 мкг/мл ДМИ не влияет на пролиферацию, тогда как доля апоптотических клеток возрастает примерно в 3,5 раза по сравнению с группой контроля. При концентрации ДМИ 5,0 мкг/мл доля делящихся клеток уменьшается примерно в 4 раза и одновременно резко (примерно в 20 раз) возрастает количество клеток, включивших программу апоптотической гибели.

Заключение. Установлено апоптотическое действие ДМИ в популяции трансформированных клеток HeLa.

М.П. Киселева, Л.М. Борисова, З.С. Шпрах, И.Ю. Кубасова, З.С. Смирнова, А.А. Штиль, А.В. Ланцова, Е.В. Санарова, Н.А. Оборотова

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНОГО ИНДОЛОКАРБАЗОЛА ЛХС-1208

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Цель исследования – доклиническое изучение противоопухолевой активности производного индолокарбазола ЛХС-1208, синтезированного в РОНЦ им. Н.Н. Блохина.

Материалы и методы. Противоопухолевую активность ЛХС-1208 изучали на перевиваемых опухолях мышей: гемобластозах (Р388, L-1210, лимфаденозе Фишера L 5178Y) и солидных опухолях (эпидермоидной карциноме легкого Льюиса (Lewis lung carcinoma, LLC), меланоме В16, раке шейки матки (РШМ) 5). В опытах использовали мышей линий $C57Bl/_6j$, $DBA/_2$, СВА и мышей-гибридов BDF_1, самок и самцов массой 20–22 г. Солидные и асцитные опухоли перевивали по стандартной методике. Критерии эффективности: торможение роста опухоли (ТРО, %), увеличение продолжительности жизни (УПЖ, %) подопытных мышей по сравнению с контрольными животными и излечение (%). Лекарственная форма ЛХС-1208: лиофилизат для приготовления раствора для инъекций (субстанция ЛХС-1208–9,0 мг; диметилсульфоксид (ДМСО) – 110 мг; Коллидон 17PF – 600 мг) перед внутривенным (в/в) введением растворяли в 2,8 мл воды.

Результаты. На лейкозах наибольшую противоопухолевую активность ЛХС-1208 проявляет в отношении Р388 (УПЖ 76 %) и лимфаденоза Фишера L 5178Y (УПЖ 83 %, полное излечение – 33 %) в терапевтической дозе 25 мг/кг при ежедневном в/в введении в течение 5 дней. На L-1210 в той же дозе и режиме применения УПЖ составила 40 %.

На солидных опухолях высокий противоопухолевый эффект выявлен в терапевтической дозе 150 мг/кг при однократном в/в введении. На LLC: ТРО составляла 95–81 % в течение 9 сут и сохранялась до 17-го дня после окончания лечения (ТРО 55–49 %). На меланоме В16 и РШМ 5 показан умеренный противоопухолевый эффект: ТРО – 59 % в течение 5 дней после окончания лечения и 74–56 % в течение 9 дней. Изучение действия ЛХС-1208 на развившуюся LLC показало, что после однократного в/в введения в терапевтической дозе 150 мг/кг препарат проявляет статистически значимое ТРО на 3-й и 7-й день после окончания лечения (51 и 47 % соответственно). Установлено, что механизм противоопухолевого действия ЛХС-1208 обусловлен интеркаляцией в ДНК и ингибированием активности топоизомеразы I, поэтому в качестве препарата сравнения предложен коммерческий препарат иринотекан (Кампто). Сравнительное изучение выявило преимущество ЛХС-1208 против иринотекана по длительности противоопухолевого действия в отношении LLC. Так ЛХС-1208 в терапевтической дозе 150 мг/кг вызывает ТРО 95–52 % в течение 20 дней после окончания лечения, а иринотекан в терапевтической дозе 66 мг/кг оказывает эффект ТРО 94–73 % в течение только 8 дней после окончания в/в введения.

Заключение. Высокий противоопухолевый эффект ЛХС-1208 на опухолях разного гистогенеза (как лейкозов, так и солидных опухолей) создает возможность для продвижения ЛХС-1208 на клинические испытания.

О.В. Князев[1], Н.А. Фадеева[1], А.В. Каграманова[1], А.А. Лищинская[1], А.Г. Коноплянников[2], И.Н. Ручкина[1], А.И. Парфенов[1]

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ДОЛГОСРОЧНОЙ БЕЗОПАСНОСТИ КЛЕТОЧНОЙ И СТАНДАРТНОЙ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ЯЗВЕННОГО КОЛИТА

[1]ГБУЗ МКНЦ ДЗМ, Москва;
[2]МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ НМИРЦ Минздрава России, Обнинск

Введение. Мезенхимальные стромальные клетки (МСК) в настоящее время широко используются в клинических исследованиях при различных заболеваниях, однако их профиль безопасности остается недоказанным.

Цель исследования – сравнить безопасность терапии язвенного колита (ЯК) у больных, получавших комплексную противовоспалительную терапию с применением МСК и стандартную терапию препаратами 5-аминосалициловой кислоты (5-АСК) и глюкокортикостероидами (ГКС).

Материалы и методы. В период с 2008 по 2015 г. системная трансплантация аллогенных МСК осуществлена 94 больным ЯК. В 1-ю группу включены 56 пациентов (29 (51,78 %) мужчин и 27 (48,22 %) женщин), среднее время наблюдения за которыми составило в среднем 62 ± 4 мес. Средний возраст больных 35,40 ± 1,42 года. Во 2-ю, контрольную группу включили 84 больных ЯК (46 (54,8 %) мужчин и 38 (45,2 %) женщин), которые получали стандартную противовоспалительную терапию препаратами 5-АСК и ГКС. Средний возраст 34,98 ± 1,23 года. В данную группу не включали больных, которые получали антицитокиновую терапию. Безопасность проводимого лечения оценивалось по наличию осложнений, возникших за время наблюдения, таких как инфекционные осложнения, обострение хронических воспалительных заболеваний, серьезные инфекционные осложнения, злокачественная трансформация, летальный исход.

Результаты. В 1-й группе больных ЯК развитие нетяжелых инфекционных осложнений или обострение хронических воспалительных заболеваний было зарегистрировано у 7 больных из 56, что составило 12,5 %, во 2-й – у 14 (16,7 %) пациентов из 84. При сравнении 2 групп не было выявлено различий в риске развития инфекционных осложнений и обострения хронических воспалительных заболеваний на фоне проведения стандартной противовоспалительной терапии ЯК и с введением МСК (отношение рисков (ОР) 0,75; 95 % доверительный интервал (ДИ) 1,5–23,58; $\chi^2 = 0,16$; $p = 0,66$). Тяжелые инфекционные осложнения (пневмония, плеврит, активация латентного туберкулеза) в 1-й группе выявлены у 1 (1,8 %) больного, во 2-й – у 5 (5,9 %). При сравнении 2 групп также не было выявлено различий в риске данного типа осложнений (ОР 0,3; 95 % ДИ 0,04–2,50; $\chi^2 = 0,59$; $p = 0,44$). Развитие колоректального рака было зарегистрировано только у 1 (1,8 %) больной 1-й группы. Время между введением МСК и диагностированным раком толстой кишки составило 10 дней. Во 2-й группе за 5 лет наблюдения злокачественная трансформация отмечена у 4 (4,8 %) пациентов (ОР 0,5; 95 % ДИ 0,05–4,96; $\chi^2 = 0,01$; $p = 0,97$). За 5 лет наблюдения в обеих группах было зарегистрировано по 1 летальному случаю, что составило 1,8 и 1,2 % соответственно (ОР 1,5; 95 % ДИ 0,10–23,49; $\chi^2 = 0,19$; $p = 0,66$).

Заключение. Проведенный анализ не выявил различий в развитии инфекционных осложнений, обострении хронических воспалительных заболеваний, серьезных инфекционных осложнений, злокачественной трансформации и смертельных случаев у больных ЯК, которые получали МСК, по сравнению пациентами, в отношении которых применялась стандартная противовоспалительная терапия.

А.П. Козлов

МЕСТО ОПУХОЛЕЙ В ЭВОЛЮЦИИ И БИОТЕРАПИЯ ОПУХОЛЕЙ

Биомедицинский центр, Санкт-Петербург;
ФГАОУ ВО СПбПУ, Санкт-Петербург

Введение. Понимание места и роли опухолей в эволюции организмов важно для определения характера биотерапии. Если опухоли на всем протяжении эволюции были только вредны для эволюционировавших организмов, то биотерапия должна ориентироваться только на уничтожение опухолей. Если же какие-то опухоли участвовали в процессах эволюции организмов, биотерапия могла бы использовать соответствующие механизмы для перевода опухолей в контролируемое состояние.

Цель исследования. В течение ряда лет мы развиваем концепцию участия некоторых опухолей в эволюции путем их неофункционализации, т. е. приобретения новых функций в организме. Согласно этой концепции наследуемые опухоли на ранних стадиях прогрессии могли участвовать

в эволюции, предоставляя дополнительные клеточные массы для экспрессии эволюционно новых генов, возникающих в зародышевой плазме эволюционирующих организмов, в результате чего могли возникать новые типы клеток, ткани и органы.

Материалы и методы. Опухолевые модели на рыбах, в том числе трансгенных. Библиотеки кДНК из опухолей и нормальных тканей человека. Базы данных разных функциональных классов генов человека. Базы данных полностью секвенированных геномов (26 геномов). Морфологические и гистохимические методы описания опухолей, молекулярно-биологические методы (полимеразная цепная реакция, глубокое секвенирование РНК), биоинформатические методы поиска ортологов (Protein Historian, Homologene, blast HMMER), ресурс «Генная онтология» (Gene Ontology).

Результаты. В ходе экспериментального изучения нетривиальных предсказаний нашей гипотезы мы описали новый класс генов – эволюционно новые гены с опухолеспецифической экспрессией. Мы показали, что эволюция онкогенов, генов-супрессоров опухолевого роста и дифференцировочных генов происходит параллельно, что подтверждает участие опухолей в происхождении новых клеточных типов. Мы показали, что некоторые гены человека, определяющие прогрессивные признаки, возникают у рыб и впервые экспрессируются в опухолях рыб. Мы также показали, что так называемые шапочки золотых рыбок, являющиеся продуктом длительного искусственного отбора, являются доброкачественными опухолями. Все эти данные свидетельствуют в пользу возможной эволюционной роли опухолей. Рассмотрены примеры, когда приобретение организменных функций эволюционно новыми генами приводило к возникновению новых типов клеток/тканей/органов. Также рассмотрено происхождение обратных связей, регулирующих новые функции, экспрессию эволюционно новых генов и пролиферацию новых типов клеток.

Заключение. Эволюционно новые гены, которые экспрессируются в опухолях и приобретают новые функции, могут участвовать в регуляции опухолей и использоваться в биотерапии опухолей. Происхождение новых организменных функций в опухолях может стать перспективной мишенью для профилактики и лечения рака.

А.С. Козлов, А.А. Красновский

ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОРЕЦЕПТОРНОЙ АКТИВНОСТИ КИСЛОРОДА В СВЯЗИ С ЗАДАЧАМИ БЕСПИГМЕНТНОЙ ЛАЗЕРНОЙ ТЕРАПИИ

ФИЦ биотехнологии РАН, Москва

Введение. Переходу кислородных молекул из основного в синглетные состояния соответствуют главные полосы поглощения в ближней инфракрасной (ИК) области (765 и 1273 нм). Установлено, что синглетный кислород (СК), обладающий высокой реакционной способностью, образуется при прямом возбуждении этих полос интенсивным лазерным ИК-излучением с достаточной скоростью, чтобы вызывать окисление некоторых органических соединений. Фоторецепторную активность кислородных молекул предложено использовать для беспигментной лазерной терапии раковых опухолей. Чтобы оптимизировать ее эффективность, необходима информация о скорости генерации СК, которая зависит от мощности лазерного излучения и оптической плотности растворенного кислорода.

Цель исследования. Так как интенсивность лазерного излучения легко измерить, основная задача данной работы состояла в определении оптической плотности растворенных кислородных молекул, которая в естественных условиях настолько мала, что ее невозможно измерить с помощью стандартных спектрофотометров.

Материалы и методы. Для решения этой задачи был использован разработанный нами фотохимический метод, основанный на сравнении скоростей окисления нескольких химических ловушек СК (1,3-дифенилизобензофуран, тетрацен, рубрен и мочевая кислота) при прямом и фотосенсибилизированном порфиринами возбуждении кислорода в органических растворителях различной полярности и воде. При этом учитывались спектральные характеристики стационарных ИК диодных и импульсных лазеров для прямого возбуждения кислородных молекул. Для обеспечения большей точности результатов был применен оптимизированный нами альтернативный метод, который основан на анализе кинетики окисления химической ловушки при длительном действии на образцы лазерного излучения.

Результаты. Расчеты по проведенным экспериментам показывают, что оптическая плотность (на 1 см) в максимуме полосы поглощения кислорода при 1273 нм сильно зависит от среды и варьирует от $(0{,}8–1{,}4)\cdot10^{-5}$ в неполярных органических растворителях до $\sim5{,}5\cdot10^{-7}$ в воде. В то же время оптическая плотность в максимуме другой полосы при 765 нм зависит от среды гораздо слабее, из-за чего в неполярных растворителях соотношение интенсивностей 2 абсорбционных полос составляет 6–8, а в воде – около 1,5. Показано, что скорость окисления ловушек практически одинакова при использовании стационарных и импульсных источников ИК-излучения при пиковой мощности импульсов менее 2,6 МВт/см^2.

Заключение. Полученные данные показывают, что для лазерной терапии на основе фоторецепторных свойств кислорода излучение в области 765 нм является более перспективным, чем ИК-излучение в области 1273 нм, которое сильно поглощается водой и существенно сильнее нагревает ткани. Кроме того, при применении импульсных лазеров, согласно нашим данным, заметного усиления фотодеструктивных эффектов не происходит, по-крайней мере в примененных нами моделях.

С.В. Козлов, О.И. Каганов, М.В. Ткачев, А.М. Козлов

МОНИТОРИНГ БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ С ПРИМЕНЕНИЕМ ОНКОМАРКЕРОВ

ГБУЗ «Самарский областной клинический онкологический диспансер», Самара

Введение. Учитывая отсутствие 100 % точности в проведении мониторинга у больных после радиочастотной термической аблации (РЧТА), а также его высокую трудоемкость и стоимость, врачи продолжают поиск новых способов оптимизации. Кроме того, данные методы не позво-

ляют оценить опухолевую активность ткани в метастазах до и после РЧТА у больных колоректальным раком (КРР).

Цель исследования – прогнозирование на дооперационном этапе риска развития прогрессирования заболевания после выполнения РЧТА метастазов КРР в печени.

Материалы и методы. С целью анализа результатов РЧТА колоректальных метастазов печени при паллиативных операциях проведено исследование 2 групп больных: 54 пациента с РЧТА метастатических очагов составили основную группу, в контрольную группу вошел 61 больной с атипичной резекцией. Средний возраст в основной и контрольной группах составил 55,47 ± 6,71 и 57,39 ± 4,99 года (t = 1,71; $p = 0,089$) соответственно. Общее число метастазов, удаленных при атипичной резекции, составило 177, при РЧТА – 194. Количество метастатических новообразований в основной группе было от 2 до 6, среднее – 3,09 ± 0,76; в контрольной – от 1 до 4, среднеет– 2,88 ± 0,89 ($p = 0,24$).

Результаты. На основании проведенного исследования была создана математическая модель

$$P = 1/1 + 2{,}71^{-z},$$

где P – вероятность того, что произойдет интересующее событие; 2,71 – основание натуральных логарифмов; z – формула множественной линейной регрессии:

$$z = 4{,}68 \cdot X1 + 0{,}02 \cdot X2 + 0{,}03 \cdot X3 - 4{,}68 \cdot X4 - 12{,}03.$$

В настоящем исследовании математическую модель строили в модуле логистической регрессии по алгоритму Вальда, с пошаговым исключением в программе SPSS. При использовании этого метода первоначально брались в расчет все 11 предикторов, после чего они ранжировались и пошагово исключались в соответствии с их вкладом в модель. В результате была получена модель, включающая в себя 4 наиболее значимых предиктора (X1 – X4): X1 – число выявленных метастазов; X2 – уровень раково-эмбрионального антигена до операции в нг/мл; X3 – значение CA19–9 до операции в Ед/мл; X4 – число метастазов размером от 2 до 3 см. Далее на основании вышеуказанной модели рассчитана классификационная таблица. У 93 больных проведено сравнение результатов, полученных при выполнении компьютерной томографии брюшной полости с целью выявления рецидива и прогрессии метастатического процесса (наблюдаемые результаты), и предсказанных результатов, полученных при помощи математической модели. Были просчитаны чувствительность (95,5 %), специфичность (100 %) и точность (96,8 %) данной математической модели.

Заключение. Применение математической модели позволяет выбрать наиболее эффективный алгоритм обследования больных после малоинвазивного лечения, что дает возможность своевременно выявлять дальнейшее прогрессирование заболевания.

А.В. Колаева[1], И.В. Гусев[1], И.М. Липатова[2], Н.Д. Олтаржевская[1]

ОСОБЕННОСТИ СОЗДАНИЯ СТЕРИЛЬНЫХ МАТЕРИАЛОВ «КОЛЕГЕЛЬ» И «КОЛЕГЕЛЬ-ДИСК» ДЛЯ НАПРАВЛЕННОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

[1]ООО «КОЛЕТЕКС», Москва;
[2]ФГБУН «ИХР им. Г.А. Крестова РАН», Иваново

Введение. Научные исследования, проводимые в ООО «Колетекс», позволили создать гидрогелевые медицинские материалы различной степени структурирования «Колегель» и «Колегель-диск» на основе альгината натрия, с импрегнированными в них различными лекарственными препаратами (ЛП) для направленного и точно ориентированного с точки зрения локализации очага в зоне повреждения подведения ЛП. Гидрогелевые материалы «Колегель» и «Колегель-диск» позволяют расширить ассортимент современных отечественных высокоэффективных медицинских материалов для направленной доставки ЛП. Однако необходимость выпуска «Колегель» и «Колегель-диск» стерильными (ГОСТ Р ИСО 11137–2000) ставит задачу повышения их устойчивости к радиационной стерилизации.

Цель исследования – изучение влияния радиационной стерилизации на устойчивость гидрогелевых медицинских материалов «Колегель» по следующим показателям: вязкость – для низкоструктурированных гидрогелевых материалов (гелей «Колегель»); физико-механические характеристики – измерение модуля упругости и предельной нагрузки на сжатие – для высокоструктурированных гидрогелевых материалов (дисков «Колегель-диск» (показатели необходимы для определения усилия при закладывании дисков в полость)) с целью выбора оптимальных параметров для получения стерильных материалов.

Материалы и методы. Вязкость альгината натрия исследовали в геле методом вискозиметрии на вискозиметре Brookfield DV-II+PRO, физико-механические характеристики дисков – на анализаторе текстуры CT3 Brookfield.

Результаты. При производстве материалов «Колегель» и «Колегель-диск» целесообразна финишная радиационная стерилизация в дозе 6 кГр (с точки зрения получения стерильных материалов). Увеличение стерилизационной дозы нежелательно, так как оно может привести к снижению вязкости гидрогеля и, как следствие, нарушению направленности доставки ЛП. Однако при проведении стерилизации в этих условиях было выявлено ухудшение реологических свойств материалов «Колегель», заключающееся в падении их вязкости до 10 раз (например, с 82 до 8 Па/с). Было определено, что введение в «Колегель» сорбата калия в концентрации от 0,15 до 0,25 % (максимально разрешенная к применению по токсикологическим параметрам концентрация) позволяет сохранить значение вязкости после стерилизации до 70 % от первоначальной. Доказано, что упругость «Колегель-дисков» полностью сохраняется при проведении радиационной стерилизации в дозе 6 кГр, однако следует отметить некоторое повышение хрупкости, не являющееся критичным для их использования.

Заключение. Изучены особенности создания стерильных материалов «Колегель» и «Колегель-диск». Установлены параметры радиационной стерилизации материалов «Колегель» и «Колегель-диск», обеспечивающие направленное подведение введенных в них ЛП к очагу поражения.

О.И. Коняева[1], Н.Ю. Кульбачевская[1], Н.П. Ермакова[1], Н.Б. Морозова[2], Р.И. Якубовская[2], В.М. Бухман[1], Т.И. Малова[3]

ИЗУЧЕНИЕ КОЖНОЙ ФОТОТОКСИЧНОСТИ БОРХЛОРИНА – НОВОГО ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА В ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ

[1]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;
[2]ФГБУ НМИРЦ Минздрава России, Москва;
[3]ООО «ВЕТА-Гранд», Москва

Введение. Борированный хлорин е6 синтезирован в Институте элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН. В фотосенсибилизатор был введен бор, что позволяет дополнить фотодинамическую терапию борнейтронозахватной терапией. В РОНЦ им. Н.Н. Блохина разработана лиофилизированная липосомальная лекарственная форма (ЛЛЛФ) борхлорина.

Цель исследования – показать безопасность использования ЛЛЛФ борхлорина в тесте кожной фототоксичности у животных.

Материалы и методы. Работа проведена на 60 мышах-самках, гибридах [C57Bl/6JxCBA] F1. Изучена фармакокинетика ЛЛЛФ борхлорина в коже, мышцах, жировой ткани, глазах, печени и крови здоровых мышей с использованием флуоресцентного анализа. Для изучения кожной фототоксичности выбраны интервалы облучения: 3, 24 и 72 ч после однократного внутривенного введения препарата в терапевтической дозе 5,0 мг/кг. Облучение проводили светодиодным источником красного света, разработанным в ГНЦ «НИОПИК», с максимумом длины волны 661 ± 16 нм. Плотность мощности составила 95 мВт/см^2, плотность энергии – 150 Дж/см^2, время облучения – 26,3 мин.

Результаты. При изучении фармакокинетики показано, что препарат в течение 3 ч накапливается в коже, достигая максимального значения, а через 48 ч уже не регистрируется. В мышце и глазах нормированная флуоресценция (НФ) препарата не определяется через 5 сут. В жировой ткани НФ регистрируется в течение 5 сут. В печени остаточное количество НФ препарата определяется > 5 сут. В крови НФ препарата регистрировалась в течение 2 сут. Результаты изучения фототоксичности показали, что у всех животных после облучения в течение первых суток развивался отек, интенсивность которого зависела от интервала времени между введением препарата и облучением. При облучении через 3 ч после введения препарата время сохранения отека составило 17,7 ± 1,0 сут; через 24 ч – 5,0 ± 0,1 сут; через 72 ч – 4,0 ± 0,1 сут и у контрольных животных – 2,0 ± 0,1 сут. Полученные данные свидетельствуют о снижении кожной фототоксичности препарата через 24 ч после введения в 3,5 раза, а через 72 ч – в 4,4 раза. На 2-е сутки наблюдения у животных, облученных через 3 и 24 ч после введения препарата, образовывался некротический струп. При облучении через 3 сут струпы отсутствовали. Время сохранения струпа составило 18,0 ± 0,7 и 8,3 ± 0,7 сут соответственно.

Заключение. ЛЛЛФ борхлорина обладает низкой кожной токсичностью в дозе 5,0 мг/кг. При использовании ЛЛЛФ борхлорина в терапевтической дозе световой режим целесообразно соблюдать в течение 4 сут.

О.И. Коняева[1], Н.Ю. Кульбачевская[1], Н.П. Ермакова[1], В.А. Чалей[1], И.Б. Меркулова[1], Т.В. Абрамова[1], В.М. Бухман[1], Т.И. Малова[2]

ТОКСИЧНОСТЬ НОВОГО ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА БОРХЛОРИНА В ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ

[1]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;
[2]ООО «ВЕТА-Гранд», Москва

Введение. Борированный хлорин е6 синтезирован в Институте элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН. В РОНЦ им. Н.Н. Блохина разработана лиофилизированная липосомальная лекарственная форма (ЛЛЛФ) борхлорина.

Цель исследования – изучение субхронической токсичности ЛЛЛФ борхлорина на собаках, а также ее местнораздражающего и аллергизирующего действия.

Материалы и методы. Работа проведена на 6 здоровых собаках породы английский бигль, полученных из разведения РОНЦ им. Н.Н. Блохина. Препарат вводили собакам внутривенно ежедневно 5-кратно в 2 суммарных дозах 2,5 и 5 мг/кг (дозы препарата были лимитированы объемом при максимально возможной концентрации – 0,25 мг/мл). Срок наблюдения после курса введения – 30 сут. Аллергизирующее действие изучали на 60 морских свинках-самках, полученных из питомника ГУ НЦ биомедицинских технологий филиал «Андреевка»; местно-раздражающее действие – на 12 кроликах, полученных из ОПХ «Манихино».

Результаты. ЛЛЛФ борхлорина в изученных суммарных дозах не вызывала видимых проявлений локальной токсичности (местнораздражающего действия) и внешних проявлений интоксикации (общетоксического действия). Препарат вызывал небольшие недозозависимые изменения в периферической крови собак-самок: уменьшение количества лейкоцитов и увеличение скорости оседания эритроцитов (суммарная доза 2,5 мг/кг), уменьшение количества эритроцитов, гемоглобина, показателей гематокрита, снижение среднего объема тромбоцитов и тромбокрита, увеличение (в 3 раза) количества тромбоцитов (суммарная доза 5,0 мг/кг), недозозависимое снижение относительного количества лимфоцитов. Препарат вызывал у собак-самок (суммарная доза 2,5 мг/кг) небольшое увеличение содержания мочевины в сыворотке крови, на вскрытии на 30-е сутки обнаружена морфологическая картина гломерулонефрита и пиелонефрита. ЛЛЛФ борхлорина в суммарной дозе 5,0 мг/кг вызывала функциональные и морфологические проявления кардиотоксичности. Препарат не оказывал влияния на углеводный обмен, морфофункциональное состояние поджелудочной железы и печени.

Заключение. Определены уровни токсических доз: суммарная доза 2,5 мг/кг охарактеризована как низкая токсическая доза (умеренные морфофункциональные изменения в органах и тканях животных, обратимые к концу наблюдения), суммарная доза 5,0 мг/кг – как высокая токсическая доза (значительные необратимые морфофункциональные изменения в органах и тканях собак). Отмечены небольшие половые различия в токсическом действии препарата (самки более чувствительны к ЛЛЛФ борхлорина). Установлено, что ЛЛЛФ борхлорина в фиксированной концентрации 0,25 мг/мл не вызывает мест-

нораздражающего действия. Препарат обладает слабыми аллергизирующими свойствами.

О.И. Коняева, Н.Ю. Кульбачевская, Н.П. Ермакова, В.А. Чалей, И.Б. Меркулова, Т.В. Абрамова, А.В. Смирнова, Е.Ю. Григорьева, А.А. Сергеев, К.А. Сережин, В.М. Бухман

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ОБЩЕТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ПОЗИТРОННОЙ ЭМИССИОННОЙ ТОМОГРАФИИ ^{18}F-FCH (^{18}F-ФТОРМЕТИЛХОЛИН)

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. ^{18}F-FCh (^{18}F-фторметилхолин) произведен на базе циклотронной радиохимической лаборатории отделения позитронной эмиссионной томографии (ПЭТ) РОНЦ им. Н.Н. Блохина, является воспроизведенным радиофармацевтическим препаратом.

Цель исследования – доклиническое изучение общетоксического действия диагностического препарата ^{18}F-FCh на лабораторных животных.

Материалы и методы. В работе использованы животные обоего пола: 96 мышей линии BDF1, 72 крысы линии Wistar, 40 неинбредных крыс, 8 собак породы английский бигль, 6 кроликов породы шиншилла и 60 морских свинок. Дозы животным рассчитывали с учетом весовых коэффициентов, исходя из принятых доз введения человеку – 400 МБк/человека – диагностическая доза (ДД). Параллельно мышам группы сравнения вводили немеченый FCh в дозах, эквивалентных 60 и 1200 ДД по основному веществу. В опытах по острой токсичности максимальные вводимые дозы превышали ДД в 60 раз; в опытах по субхронической токсичности (3-кратно ежедневно внутривенно) на крысах суммарные дозы соответствовали 1, 30 и 60 ДД и на собаках – 1 и 60 ДД.

Результаты. ^{18}F-FCh при однократном внутривенном введении самцам и самкам мышей и крыс не вызывал гибели животных. Внешние проявления интоксикации и половые различия отсутствовали. Установлена хорошая переносимость животными ^{18}F-FCh при многократном применении в дозах, превышающих ДД в 30 и 60 раз. Многократное применение ^{18}F-FCh не оказывало влияния на функциональное и морфологическое состояние практически всех органов и тканей животных. У собак ^{18}F-FCh в дозе, соответствующей 60 ДД, вызывал количественные и качественные изменения электрической активности сердца (уменьшение числа сердечных сокращений, увеличение интервалов QT, PQ и инверсию зубца Т). Обнаружение на 30-е сутки небольшого количества гиперэозинофильных волокон в миокарде собаки, получившей ^{18}F-FCh в суммарной дозе, соответствующей 60 ДД, является морфологическим подтверждением гипоксии миокарда. Эти изменения могут считаться проявлением кардиотоксичности. Соединение ^{18}F-FCh не обладает местнораздражающим действием как на 3-и, так и на 15-е сутки после однократного внутривенного введения кроликам. Соединение ^{18}F-FCh обладает слабыми аллергизирующими свойствами. Установлено предельное содержание бактериальных эндотоксинов для соединения ^{18}F-FCh – не более 17,5 ЕЭ/мл, которое было рекомендовано для внесения в проект ФСП.

Заключение. Полученные результаты доклинического изучения токсичности соединения ^{18}F-FCh позволяют рекомендовать его для клинического применения.

О.В. Короткова, Т.Н. Заботина, А.А. Борунова, Д.В. Табаков, И.В. Самойленко, Г.Ю. Харкевич, Л.В. Демидов, З.Г. Кадагидзе

СУБПОПУЛЯЦИОННАЯ СТРУКТУРА ЛИМФОЦИТОВ БОЛЬНЫХ МЕЛАНОМОЙ В ПРОЦЕССЕ ТАРГЕТНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. В настоящее время в мире проводятся интенсивные исследования по определению роли «контрольных точек иммунитета» – молекул, экспрессирующихся на определенных субпопуляциях лимфоцитов и являющихся мишенями для таргетной иммунотерапии. Разработаны препараты, направленные против CTLA-4, PD1 и др., однако их воздействие на субпопуляцию иммунокомпетентных клеток требует дополнительного изучения.

Цель исследования – изучение субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови в процессе терапии ипилимумабом.

Материалы и методы. Иммунофенотипирование лимфоцитов проводили методом многопараметрового цитофлуориметрического анализа до и после 4 введений ипилимумаба (3 мг/кг каждые 21 день). В исследование были включены 53 пациента с диссеминированной меланомой. В качестве контрольных образцов использовали периферическую кровь 39 практически здоровых доноров. Больные были разделены на 2 группы: 1-я – со стабилизацией процесса ($n = 22$) и 2-я – с прогрессированием заболевания ($n = 31$). Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения Sigma Plot 11.0 for Windows.

Результаты. Выявлено, что количество $CD3^+$ Т-клеток после лечения у пациентов 1-й группы возросло по отношению к исходному уровню и статистически значимо отличалось от такового во 2-й группе ($77,3 \pm 11,2$ и $70,4 \pm 11,5$ соответственно; $p = 0,04$). Количество $CD3^+CD4^+$ Т-клеток у больных 1-й группы до и после лечения было в пределах нормы, в отличие от пациентов 2-й группы, у которых и до и после лечения количество этих клеток было статистически значимо ниже контрольных значений. Также в 1-й группе нормализовалось соотношение CD4/CD8. Цитотоксический потенциал $CD8^+$-лимфоцитов во 2-й группе был статистически значимо выше контроля и до и после лечения, а в 1-й группе после лечения он несколько снизился. У пациентов 1-й группы отмечалась тенденция к снижению количества NKT-клеток ($CD3^+CD16^+CD56^+$). Во 2-й группе количество эффекторных клеток памяти с фенотипом $CD8^+CD11b^+CD28^+$ возросло после лечения ($9,2 \pm 8,4$ и $15,2 \pm 12,8$), а в 1-й группе оно было статистически значимо выше контроля и до и после лечения ($11,4 \pm 9,6$ и $15,8 \pm 11,1$). В то же время в 1-й группе количество регуляторных клеток $CD8^+CD11b^-CD28^-$ до лечения было выше контрольных значений, а после лечения снизилось до уровня контроля и стало статистически значимо ниже, чем до лечения ($15,7 \pm 11,6$ и $9,7 \pm 4,1$; $p = 0,04$). Во 2-й группе количество этих клеток было практически на одном

уровне и до и после лечения и не отличалось от контроля (10,8 ± 7,0; 11,68 ± 7,0 и 9,3 ± 7,2 соответственно). В 1-й группе статистически значимо повышено количество $CD25^+$-лимфоцитов как до, так и после лечения по сравнению с контролем. В то же время число регуляторных клеток $CD4^+CD25^+CD127^{low/neg}$ в обеих группах находилось в пределах контрольных значений.

Заключение. Изучен субпопуляционный состав периферической крови больных меланомой в процессе терапии ипилимумабом.

Л.И. Корытова, Е.В. Власова, А.В. Павловский, Г.Л. Васильев, А.В. Козлов

ХИМИОЛУЧЕВАЯ ТЕРАПИЯ В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННЫМ РАКОМ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ФГБУ РНЦРХТ Минздрава России, Санкт-Петербург

Введение. В 2014 г. в РФ зарегистрировано 14 796 новых случаев заболевания раком поджелудочной железы (РПЖ), из них > 70 % на момент установления диагноза – III–IV стадии. На момент установления диагноза 30 % больных нерезектабельны, даже при отсутствии дистальных метастазов.

Цель исследования. Для повышения эффективности комбинированной химиолучевой терапии проведен анализ применения конформной лучевой терапии (КЛТ) в режиме среднего фракционирования и регионарной химиотерапии больных местно-распространенным РПЖ без отдаленных метастазов.

Материалы и методы. За 2013–2014 гг. данное лечение проведено 27 пациентам с гистологически верифицированным местно-распространенным РПЖ. Включение в исследование проводилось на основании физикального осмотра, чрескожной трепан-биопсии под ультразвуковым контролем, мультиспиральной компьютерной томографии органов брюшной полости, диагностической ангиографии (ДАГ). По локализации опухолевого процесса: головка и тело поджелудочной железы с вовлечением устья чревного ствола или начального отдела верхней брыжеечной артерии – 18 больных, хвост поджелудочной железы с сегментарным поражением общей печеночной артерии – 9 больных. Лечение проводилось в 2 этапа. На первом этапе выполнялась ДАГ для определения степени вовлечения сосудов в опухолевый процесс. После диагностики катетер устанавливался в чревном стволе для проведения регионарной химиотерапии Гемзаром – 1000 мг/м^2, длительность инфузии 2 ч. Второй этап – проведение КЛТ на область поджелудочной железы в многопольном статическом режиме, разовая очаговая доза 3 Гр, $n = 17$, до эквивалентной суммарной очаговой дозы 62 Гр. Для каждого пациента было изготовлено индивидуальное фиксирующее устройство – матрац. Качество укладки контролировалось системой визуализации рентгеновского объемного изображения (XVI). Лучевая терапия проводилась на линейном ускорителе Elekta Axesse. Срок наблюдения составил 6–12 мес.

Результаты. За период наблюдения стабилизация была достигнута у 10 пациентов, частичный регресс – у 8, выраженность болевого синдрома уменьшилась у 5, в том числе у 2 больных с изолированным поражением общей печеночной артерии удалось произвести оперативное лечение, оба пациента живы в срок 12 и 18 мес без признаков рецидивирования заболевания, умерли 6 пациентов. Осложнения: лейкопения I–II степени – 4 больных, анемия I–II степени – 4 и тромбоцитопения I–II степени – 6 пациентов.

Заключение. Комбинированная терапия с применением регионарной химиотерапии Гемзаром 1000 мг/м^2 и КЛТ является безопасным и эффективным методом, повышающим качество жизни больных местно-распространенным РПЖ без отдаленных метастазов.

С.Н. Корякин, С.Е. Ульяненко, Е.В. Исаева, Е.Е. Бекетов, М.В. Трошина

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФОТОН-ЗАХВАТНАЯ ТЕРАПИЯ НА КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЕ И ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ НМИРЦ Минздрава России, Обнинск, Калужская область

Введение. Исследования, направленные на повышение эффективности фотон-захватной или других бинарных методов лучевой терапии, в последние годы интенсивно развиваются. Особое внимание уделяется оценке величины вклада фотон-захватных событий в суммарную поглощенную дозу при облучении биологических объектов рентгеновским излучением.

Цель исследования – определение биологической эффективности рентгеновского излучения в сочетании с фотон-захватными событиями на клеточной культуре и животных-опухоленосителях.

Материалы и методы. Исследование зависимости развития фотон-захватных реакций от дозы рентгеновского излучения (2–10 Гр) проводили по тесту клоногенной активности клеток мышиной меланомы В-16, культивируемых в питательной среде с добавлением золотосодержащего нанокомпозита (концентрация золота 100 мкг/мл), предоставленного компанией «МАРТИНЕКС» (Москва). Значения относительной биологической эффективности (ОБЭ) рассчитывали по уровню 10 % выживаемости клеток. Также проводили эксперименты на крысах с привитой опухолью – саркомой М-1. Дозы локального облучения – 28, 32 и 36 Гр для групп животных без введения в опухоль золотосодержащего соединения. При однократном введении в опухоль золотосодержащего нанокомпозита (4 мг золота на опухоль) за 15 мин до облучения доза составила 28 Гр. Оценивали противоопухолевую эффективность по критерию подавления роста опухоли и проявлению кожных реакций. Облучение культуры клеток и животных проводили на рентгеновской установке для обработки крови – СОУК. Источники излучения – 2 рентгеновские трубки, установленные в излучателях РАП 220–5, напряжение на аноде 180 кВ, средний ток 5 мА. Мощность дозы облучения составляла 1,3 Гр/мин.

Результаты. В опытах *in vitro* инкубация клеток мышиной меланомы В-16 в течение 24 ч перед облучением в среде с содержанием золота 100 мкг/мл дает значение коэффициента ОБЭ по тесту 10 % выживаемости клеток – 1,5. В опытах *in vivo* воздействие рентгеновского излучения в дозе 28 Гр в сочетании с введением золотосодержащего соединения позволило получить противоопухолевый эффект, равный возникающему после локального облучения

в дозе 32 Гр (площади под кривой динамики роста опухоли составили 30,96 и 31,30 усл. ед. соответственно). Выигрыш в дозе за счет фотон-захватных событий на золоте составил 4 Гр, или 14,3 % от разовой очаговой дозы, при том что проведенные методом Монте-Карло расчеты предсказывали увеличение дозы всего на 5 %. Введение золотосодержащего соединения никак не сказалось на проявлении дополнительных кожных реакций.

Заключение. Проведенные исследования свидетельствуют о высокой биологической эффективности вторичного излучения, образующегося при реакциях фотон-захватного взаимодействия рентгеновского излучения и атомов золота.

Исследования проведены при финансовой поддержке РФФИ (проект № 14-44-03084).

Е.Н. Кособокова[1], М.В. Пинюгина[1], А.И. Щербаков[1], Е.В. Шешукова[2], Ю.Л. Дорохов[2], В.С. Косоруков[1]

ПОЛУЧЕНИЕ МОДЕЛИ СЛИТНЫХ БЕЛКОВ НА ОСНОВЕ АНТИТЕЛ И ЦИТОКИНОВ В ЦЕЛЯХ ИЗУЧЕНИЯ ВОЗМОЖНОСТИ ТАРГЕТНОЙ ДОСТАВКИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

[1]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва; [2]НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва

Введение. Попытки уменьшить возникающую при сочетанном лечении кумулятивную иммуносупрессию применением интерферона α-2b (ИФНα-2b) не дали терапевтического выигрыша на фоне собственного побочного действия цитокина. Подход к решению указанной проблемы возможен при создании новой конструкции слитного рекомбинантного белка, в которой компонент мАт к Her2 обеспечит направленную доставку и блокирование рецептора Her2, а цитокиновый компонент реализует собственное биологическое действие в зоне микроокружения опухоли.

Цель исследования – изучение модели гибридного белка на основе моноклональных гуманизированных антител против опухолевого антигена Her2 и ИФНα-2b человека (антиHer2 – чИФНα-2b).

Материалы и методы. Генно-инженерными методами модификации дезоксирибонуклеиновой кислоты и искусственного синтеза последовательностей были созданы 4 генетические конструкции, отличающиеся промоторными участками (промоторы 35S и промотор гена актина *Akt*) и длиной линкера между антителом и цитокином: 35S-Her2-L15-IFN, 35S-Her2-L6-IFN, Akt-Her2-L15-IFN, Akt-Her2-L6-IFN. В работе использована относительно простая, безопасная и малозатратная технология экспрессии рекомбинантных белков в листовой биомассе транзиторно трансфецированных растений (*Nicotiana benthamiana*). Очистку целевого белка проводили в несколько этапов: экстракция, фильтрация, аффинная хроматография, гель-фильтрация. Для оценки уровня экспрессии и идентификации белка использовали методы фореза полиакриламидным гелем и иммуноферментного анализа (ИФА). Была разработана методика оценки качества сборки гибридной конструкции, в соответствии с которой антиHer2-чИФНα-2b наносили на планшет с антителами против иммуноглобулина G, а далее на гибридную конструкцию сажали антитела против чИФНα-2b, меченные пероксидазой хрена.

Результаты. Полученные результаты свидетельствуют об успешной экспрессии гибридного белка антиHer2-чИФНα-2b. Наибольший уровень экспрессии слитного белка был получен при использовании промотора гена актина *Akt*. Методом ИФА в различных исполнениях было доказано, что гибридный белок действительно содержит в составе одной белковой частицы полноразмерное антитело, имеющее аффинность к антигену Her2 и узнаваемое антителами против иммуноглобулинов человека, и домен чИФНα-2b, узнаваемый соответствующими антителами. На культуре клеток нормальных фибробластов 3Т3 было показано отсутствие цитотоксического эффекта терапевтических доз гибридного белка. В настоящее время ведутся работы по изучению биологической активности каждого из компонентов гибридной конструкции различными методами в целях оценки эффективности создания слитных белков подобной конфигурации.

Заключение. Полученные результаты подтверждают возможность успешного получения методом растительной транзиторной экспрессии сложных многокомпонентных белков, таких как слитные конструкции моноклональных антител с другими биологически активными белками, например чИФНα-2b. Дальнейшие исследования позволят оценить практическую перспективность данного подхода.

А.И. Котельников, А.Ю. Рыбкин, Н.С. Горячев, А.Ю. Белик, П.А. Михайлов, А.В. Жиленков, П.А. Трошин

НОВЫЕ ПРИНЦИПЫ СОЗДАНИЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ГИБРИДНЫХ СТРУКТУР ФУЛЛЕРЕН–КРАСИТЕЛЬ

ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область

Введение. В медицинской практике для фотодинамической терапии широко используются производные порфиринов, фталоцианинов и хлоринов, которые при поглощении кванта света переходят в триплетное состояние, в результате чего генерируются активные формы кислорода и подавляется развитие опухолей. В рамках проведенных исследований обнаружено, что при объединении в одну гибридную структуру красителя и фуллерена энергия возбуждения красителя эффективно передается на фуллерен и с высокой эффективностью трансформируется в генерацию активных радикальных частиц. Это открывает возможность использовать для создания фотодинамических препаратов нового поколения красители, возбуждаемые не только в триплетное, но и в синглетное состояние. В результате значительно повышается фотодинамическая активность традиционных красителей и расширяются пути поиска новых красителей, удовлетворяющих широкому спектру разносторонних требований, предъявляемых к фотодинамическим препаратам.

Цель исследования – создание высокоэффективных фотодинамических препаратов нового поколения на основе ковалентных комплексов фуллерен – краситель.

Материалы и методы. Разработаны научные принципы и методы создания водорастворимых ковалентных структур фуллерен – краситель, в которых поглощение красителем кванта света приводит к переносу энергии или электрона

на фуллерен. Осуществлено ковалентное присоединение к производным фуллерена красителей флуоресцеина, эозина, противоопухолевого антибиотика рубоксила и других красителей. Методами стационарной и кинетической спектрофлуориметрии показано, что при возбуждении красителя в составе гибридной структуры в синглетное возбужденное состояние происходит эффективный перенос возбуждения или электрона с красителя на фуллерен с последующей генерацией активных форм кислорода. Фотодинамическая активность гибридных структур исследовалась в водных растворах и в структуре липосом по влиянию на дезоксирибонуклеиновую кислоту и клеточные культуры.

Результаты и выводы. Показано, что объединение в одну гибридную структуру красителя и фуллерена позволяет повысить фотодинамическую активность традиционных красителей в 5–50 раз или использовать красители, возбуждаемые только в синглетное состояние, что значительно расширяет возможности поиска оптимальных красителей для создания высокоэффективных фотосенсибилизаторов нового поколения.

Исследования поддержаны Программой Президиума РАН № 1 «Наноструктуры: физика, химия, биология, основы технологий» и грантом РФФИ № 16-34-01156-мол_а.

О.О. Красновская, В.М. Герасимов, Т.В. Иванишин, Ю.В. Федоров, А.Г. Мажуга, Е.К. Белоглазкина, Д.А. Скворцов, М.Э. Рубцова, О.А. Донцова, Н.В. Зык

НОВЫЕ КООРДИНАЦИОННЫЕ СОЕДИНЕНИЯ CO (II), CU (I, II) НА ОСНОВЕ ИМИДАЗОЛИН-4-ОНОВ, ОБЛАДАЮЩИХ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТЬЮ

ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва

Введение. Открытие цисплатина в 1965 г. положило начало широкому спектру исследований антипролиферативных свойств металлосодержащих координационных соединений. Измененный метаболизм опухолевых клеток и накопление ионов меди по сравнению со здоровыми тканями являются основой для разработки координационных соединений меди с антипролиферативной активностью. Координационные соединения Co, основного компонента витамина B_{12}, также представляются перспективными для разработки новых химиотерапевтических агентов.

Цель исследования – синтез координационных соединений Co (II), Cu (II) на основе 2-тиогидантоинов, 2-алкилтиоимидазолов, обладающих противоопухолевой активностью.

Материалы и методы: реактивы Sigma Aldrich, ядерный магнитный резонанс, масс-спектроскопия, инфракрасная спектроскопия, электрофорез в агарозном геле, МТТ-тест, конфокальная микроскопия, TUNEL, проточная цитометрия.

Результаты. Были получены серии лигандов и соответствующих координационных соединений Cu (I, II), Co (II), на основе 2-тиогидантоинов, 2-алкилтиоимидазолов, обладающих цитотоксичностью по отношению к опухолевым клеткам HEK-293, MCF-7, SiHa. Исследовано соотношение структура – цитотоксичность полученных лигандов и координационных соединений. Показана способность смешанновалентных координационных соединений Cu (II), Cu (I) накапливаться в клеточном ядре. Впервые получены лиганды на основе производных 2-алкилтио-5-(пиридилметилен-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-онов, содержащие фрагменты биотина и углеводов. Данные соединения являются перспективными в качестве векторных лигандов для направленной доставки в опухолевые клетки печени и молочной железы.

Заключение. В результате данной работы синтезированы перспективные координационные соединения Cu (II), Cu (I) на основе 2-тиогидантоинов, 2-алкилтиоимидазолов, обладающих противоопухолевой активностью, сравнимой с используемыми в клинической практике аналогами.

Авторы выражают благодарность Российскому научному фонду за поддержку исследований.

Н.В. Красногорова[1], Ю.Д. Хромина[1], Д.В. Новиков[1], С.Г. Фомина[1], Н.Н. Гурина[1], А.В. Алясова[2], П.А. Будай[3], В.В. Новиков[1]

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЕЙ ЭКСПРЕССИИ МАТРИЧНОЙ РИБОНУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ ГЕНОВ *FCγRIIIα* И *FCγRIIIβ* У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

[1]ФГАОУ ВО «ННГУ им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород;
[2]ГБОУ ВПО НижГМА Минздрава России, Нижний Новгород;
[3]ГБУЗ НО НОКОД, Нижний Новгород

Введение. Низкоаффинный рецептор FcγRIII представлен 2 генами: *FcγRIIIα* и *FcγRIIIβ*, которые являются паралогичными и идентичны на 98 %. Известно, что уровень белка CD16 изменяется в сыворотке крови при онкологических заболеваниях и может служить важным прогностическим показателем при мониторинге этих патологий. Однако особенности изменений уровней экспрессии генов *FcγRIIIα* и *FcγRIIIβ* являются мало изученными, и остается непонятным, какой из генов вносит вклад в повышение сывороточного уровня растворимого CD16 у больных колоректальным раком (КРР).

Цель исследования – сравнение уровней экспрессии матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК) генов *FcγRIIIα* и *FcγRIIIβ* у больных КРР.

Материалы и методы. В работе использовали периферическую кровь 23 больных КРР и 24 здоровых лиц. С помощью специфичных праймеров проводили раздельное определение уровней мРНК генов *FcγRIIIα* и *FcγRIIIβ* методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией с детекцией в реальном времени относительно референтного гена *UBC* с красителем Cy5 и гасителем RTQ2.

Результаты. Установлено, что как у здоровых лиц, так и у больных КРР уровень мРНК *FcγRIIIα* превышал уровень мРНК *FcγRIIIβ* в 3,3 и 2,8 раза соответственно. При этом у больных КРР в периферической крови наблюдалось снижение уровня мРНК *FcγRIIIα* и повышение уровня мРНК *FcγRIIIβ* ($p < 0,05$) по сравнению со здоровыми лицами. В исследуемой группе 16 пациентов получали полихимиотерапию. После лечения у больных КРР наблюдалось повышение средних значений уровней мРНК *FcγRIIIα* в 1,37 раза и мРНК *FcγRIIIβ* в 1,23 раза по сравнению с уровнями мРНК генов *FcγRIII* до лечения. Однако наблюдаемые изменения не были статистически значимы.

Заключение. Таким образом, у больных КРР наблюдается повышение уровня экспрессии мРНК гена *FcγRIIIβ* на фоне снижения уровня экспрессии мРНК гена *FcγRIIIα*. Полученные данные свидетельствуют о том, что повышение сывороточного содержания растворимого CD16 скорее всего связано с более высоким уровнем мРНК гена *FcγRIIIβ*.

Г.И. Кричевская, А.С. Андрюшин, О.С. Слепова, С.В. Саакян, Е.Б. Мякошина, Т.А. Андреева, А.В. Трухина, Г.П. Захарова, А.М. Майбогин

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ БИОПТАТОВ ОПУХОЛЕЙ ОРБИТЫ И ГЛАЗА

ФГБУ «МНИИ ГБ им. Гельмгольца» Минздрава России, Москва

Введение. Известно значение многочисленных офтальмотропных возбудителей хронических инфекций в воспалительной патологии глаза. Однако только в единичных сообщениях оценивается их роль в этиопатогенезе опухолей глаза и орбиты.

Цель исследования – сравнительное изучение частоты выявления дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) широко распространенных офтальмотропных возбудителей в биоптатах опухолей глаза, орбиты и в плазме крови.

Материалы и методы. Биоптаты опухолей и плазма крови 28 пациентов с верифицированными лимфомами орбиты (ЛО, $n = 7$), меланомой хориоидеи (МХ, $n = 10$), ретинобластомой (РБ, $n = 11$) исследовали методом полимеразной цепной реакции в реальном времени на наличие геномов вирусов простого герпеса 1-го и 2-го типа, вируса Эпштейна – Барр (ВЭБ), цитомегаловируса (ЦМВ), вирусов герпеса человека 6-го и 8-го типов (ВГЧ-6, -8), токсоплазмы, хламидии трахоматис, микоплазмы гоминис и *Ureaplasma spc*.

Результаты. В целом геномы различных патогенов выявлены в 46 % биоптатов опухолей (86 % ЛО, 45 % РБ и 20 % МХ) и только в 3,6 % анализов плазмы крови ($p > 0,05$). Спектр возбудителей при ЛО, МХ и РБ разнился: при ЛО обнаружены только лимфотропные герпесвирусы (ВЭБ, ВГЧ-6, -8) с преобладанием ВЭБ; при РБ – ЦМВ, ВЭБ, ВГЧ-6; при МХ – хламидии, ВЭБ, ЦМВ.

Заключение. Выявлена высокая частота детекции ДНК ВЭБ и ВГЧ-6 в ткани ЛО по сравнению с МХ и РБ. Необходимы дальнейшие исследования для оценки роли герпес-вирусов и других обнаруженных микроорганизмов в этиопатогенезе опухолей глаза и орбиты.

М.Е. Кукушкин, А.Г. Мажуга, Е.К. Белоглазкина, Н.В. Зык

СОЗДАНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ДИСПИРОПРОИЗВОДНЫХ 2-ТИОКСО-ТЕТРАГИДРО-4Н-ИМИДАЗОЛ-4-ОНОВ

Химический факультет ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва

Введение. В настоящее время актуальной является задача поиска непептидных низкомолекулярных ингибиторов белка MDM2, который взаимодействует с белком p53, являющимся опухолевым супрессором, играющим ключевую роль в жизненном цикле клетки и апоптозе. Ингибитор связывается с MDM2, за счет чего высвобождается p53, который запускает процесс разрушения опухоли. Таким образом, повышение активности клеточного белка p53 путем блокирования взаимодействия с его эндогенным ингибитором онкобелком MDM2 является новым направлением в терапии раковых заболеваний. Так, большинство синтезируемых соединений-ингибиторов в своей структуре имеют спироиндолиноновый фрагмент, который имитирует взаимодействие Trp23 из p53 с MDM2, заполняя в нем глубокий гидрофобный карман, являющийся наиболее важным участком для их связывания.

Цель исследования – синтез различных производных 2-тиоксо-тетрагидро-4Н-имидазол-4-онов двух структурных типов, содержащих в себе спироиндолиноновый фрагмент, для их дальнейшего биологического тестирования и определения зависимости структура – активность.

Материалы и методы. Исходя из наличия коммерчески доступных реагентов, разработаны способы получения спироиндолинонов путем 1,3-диполярного циклоприсоединения продукта взаимодействия изатинов и N-замещенных аминокислот с производными 2-тиоксо-тетрагидро-4Н-имидазол-4-онов с образованием соединений, в структуре которых имеется жесткий каркас из 3 спиросочлененных гетероциклов, содержащий заместители различной природы, в основе которого лежит спироиндолиноновое ядро. Структура получаемых соединений была подтверждена с использованием комплекса физико-химических методов, таких как корреляционная ядерная магнитно-резонансная спектроскопия, масс-спектрометрия высокого разрешения (HRMS) и рентгеноструктурный анализ.

Результаты. Разработан универсальный синтетический подход к получению новых классов диспиропроизводных на основе 2-тиоксо-тетрагидро-4Н-имидазол-4-онов и предложен препаративно удобный метод синтеза данных соединений. На клеточных линиях LNCap, PC3 и HCT $p53^{(+/+)}$ и HCT $p53^{(-/-)}$ исследована цитотоксичность полученных соединений и определены предварительные соединения-лидеры. Методом конфокальной флуоресцентной микроскопии на примере клеточной культуры HEK-293 показано, что конъюгат диспиропроизводных на основе 2-тиоксо-тетрагидро-4Н-имидазол-4-онов и флуоресцентного красителя diSulfoCy5 проникает через клеточную мембрану.

Заключение. По полученным в ходе работы результатам было установлено, что исследуемые классы спироиндолинонов проявляют хорошую аффинность к сайту связывания белков p53 – MDM2, что дает возможность судить о потенциальной перспективности проводимых исследований.

Е.В. Кулигина, А.А. Немудрая, Г.В. Кочнева, В.А. Рихтер

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ПРЕПАРАТ ЛАКТАПТИН: СПОСОБЫ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ

ИХБФМ СО РАН, Новосибирск

Введение. Создание систем адресной доставки лекарственных средств к клеткам опухоли является актуальным и активно развивающимся направлением исследований. Противоопухолевый препарат Лактаптин индуцирует апоптоз раковых клеток человека в культуре и тормозит рост и метастазирование опухолей животных и человека. Адресная доставка Лактаптина позволит повысить эффек-

тивность его противоопухолевого действия и снизить возможное цитотоксическое действие на нормальные клетки.

Цель исследования – разработка систем адресной доставки Лактаптина к опухолевым клеткам.

Материалы и методы. Отбор опухоль-адресованных пептидов, экспонированных в составе поверхностного белка pIII нитчатого бактериофага M13, проводили из фаговой пептидной библиотеки в системах *in vitro* и *in vivo*. Плазмиды, несущие гены, кодирующие рекомбинантный слитый белок, состоящий из опухоль-адресованного пептида и Лактаптина, получали методами генной инженерии. Таким образом выведены рекомбинантные штаммы вируса осповакцины со встройкой 2 трансгенов – апоптозиндуцирующего белка лактаптина и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) человека – в районы генов тимидинкиназы и вирусного ростового фактора.

Результаты. Проведен отбор опухоль-адресованных пептидов в системе *in vitro* на культурах раковых клеток мыши и человека и *in vivo* на мышиной опухолевой модели и на опухоли молочной железы человека в модели ксенографтов. Получены рекомбинантные плазмиды, кодирующие рекомбинантные слитые белки, состоящие из отобранных пептидов и Лактаптина, и штаммы *Escherichia coli* – продуценты слитых белков. Цитотоксическая и апоптотическая активность рекомбинантных белков в отношении раковых клеток человека в культуре не уступает активности Лактаптина, при этом тропность слитых белков к опухоли превышает тропность Лактаптина в 3–5 раз. Получены рекомбинантные штаммы вируса осповакцины с двойной делецией генов тимидинкиназы и ростового фактора и встройкой в делетированные участки генома 2 трансгенов – апоптозиндуцирующего белка лактаптина и ГМ-КСФ человека: VV-GMCSF Lact – вариант с несекретируемой формой лактаптина; VV-GMCSF-S (long) – Lact – вариант с секретируемой формой лактаптина с длинной лидерной последовательностью; VV-GMCSF-S-Lact – вариант с секретируемой формой лактаптина с короткой лидерной последовательностью. Все полученные рекомбинанты продемонстрировали высокую цитотоксическую активность в отношении клеток рака молочной железы человека MCF7 и MDA-MB-231. Также показано, что вирус с двойными делециями (аттенуированный вирус осповакцины) адресно накапливается в клетках опухоли при внутриопухолевом введении и способен находить отдаленные метастазы и реплицироваться в них.

Заключение. Разработаны системы адресной доставки противоопухолевого препарата Лактаптин, позволяющие повысить противоопухолевую эффективность лекарственного средства.

Н.Ю. Кульбачевская, О.И. Коняева, Н.П. Ермакова, В.А. Чалей, А.А. Сергеев, К.А. Сережин, В.М. Бухман

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ВОСПРОИЗВЕДЕННОГО ВИНКРИСТИНА И ВИНКРИСТИНА ФИРМЫ TEVA

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. В лаборатории разработки лекарственных форм РОНЦ им. Н.Н. Блохина воспроизведена лекарственная форма винкристина (ВК-В), в лаборатории фармакологии и токсикологии проведено доклиническое токсикологическое изучение ВК-В в сравнении с винкристином фирмы Тева, Израиль (ВК-Т).

Цель исследования – сравнительное изучение острой и субхронической токсичности ВК-В и ВК-Т на мелких лабораторных животных для подтверждения их идентичности.

Материалы и методы. Исследования проведены на 70 мышах-самцах гибридах $B_6D_2F_1$ и 160 неинбредных крысах-самцах, полученных из разведения РОНЦ им. Н.Н. Блохина. ВК-В – раствор для внутривенного (в/в) введения с концентрацией ВК 0,93 мг/мл, во флаконе по 2 мл, серия 031014. ВК-Т – раствор для в/в введения с концентрацией ВК 1 мг/мл, во флаконе по 1 мл, серия 14F20KF. В опытах по острой токсичности препараты вводили мышам однократно в/в в диапазоне доз от 2 до 10 мг/кг, крысам – от 0,25 до 1,5 мг/кг. В опытах по субхронической токсичности препараты вводили в/в ежедневно трехкратно в 3 суммарных дозах 0,25; 0,5 и 0,75 мг/кг. Срок наблюдения за животными составил 30 сут.

Результаты. В результате проведенных исследований установлено, что ВК-В и ВК-Т у животных вызывают одинаковые проявления токсичности: пилоэрекцию, сужение глазных щелей, гиподинамию, диарею, анорексию, сукровичные выделения из носа и глаз. Установлено, что сроки гибели и число павших животных, как в опытах на мышах, так и в опытах на крысах, получавших ВК-В и ВК-Т, практически не отличаются. Получены расчетные токсические дозы для крыс ВК-В: $ЛД_{10}$ = 0,54 мг/кг; $ЛД_{50}$ = 0,77 (0,66 ÷ 0,91) мг/кг и ВК-Т: $ЛД_{10}$ = 0,42 мг/кг; $ЛД_{50}$ = 0,61 (0,48 ÷ 0,71) мг/кг, которые практически не отличаются друг от друга. По результатам изучения субхронической токсичности установлено, что ВК-В и ВК-Т по показателям токсичности (клинические проявления токсичности, летальность, гепатотоксичность, биомаркеры токсичности, морфометрия органов) и по результатам патоморфологического исследования практически не отличаются друг от друга.

Заключение. На основании результатов, полученных при сравнительном изучении ВК-В и ВК-Т, установлено, что препараты практически идентичны по показателям как острой, так и субхронической токсичности.

Н.Ю. Кульбачевская[1], О.И. Коняева[1], Н.П. Ермакова[1] В.А. Чалей[1], И.Б. Меркулова[1], Т.В. Абрамова[1], В.М. Бухман[1], Т.И. Малова[2]

ИЗУЧЕНИЕ СУБХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ БОРХЛОРИНА – НОВОГО ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА В ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ НА КРЫСАХ

[1]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;
[2]ООО «ВЕТА-Гранд», Москва

Введение. Борированный хлорин е6 синтезирован в ИНЭОС им. А.Н. Несмеянова РАН. В РОНЦ им. Н.Н. Блохина разработана лиофилизированная липосомальная лекарственная форма (ЛЛЛФ) борхлорина.

Цель исследования – изучение субхронической токсичности ЛЛЛФ борхлорина.

Материалы и методы. Работа проведена на 40 неинбредных беспородных крысах-самцах. Препарат вводили внутривенно ежедневно пятикратно в 3 суммарных дозах: 5, 15 и 30 мг/кг (максимальная суммарная доза превышает эквитерапевтическую дозу мышей (в пересчете на крыс) в 12 раз). ЛЛЛФ борхлорина растворяли в воде для инъекций до получения рекомендованной концентрации – 0,25 мг/мл. Срок наблюдения за животными после курса введения – 30 сут.

Результаты. ЛЛЛФ борхлорина не оказывала влияния на общее состояние животных, не вызывала их гибели и внешних проявлений токсичности, не изменяла поведенческие реакции животных. Препарат в суммарной дозе 30 мг/кг вызывал незначительное снижение количества эритроцитов, уровня гемоглобина, показателей гематокрита и увеличение количества тромбоцитов на 3-и сутки после окончания введения с последующим восстановлением к 7-м суткам наблюдения. ЛЛЛФ борхлорина во всех дозах вызывала умеренное дозозависимое нарушение как барьерной (изменение активности аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы), так и синтезирующей функции печени (изменение показателей общего белка). Морфологически в печени крыс (суммарная доза 30 мг/кг) на 3-и сутки обнаруживали очаги гепатоцитов с признаками вакуольной дистрофии, полностью исчезающие к 30-м суткам. Препарат в суммарных дозах 15 и 30 мг/кг оказывал влияние на функцию почек, вызывая на 3-и сутки наблюдения увеличение содержания креатинина примерно на 30 % и на 15-е – на 25–40 % суточного диуреза во всех изученных дозах. Морфологических изменений в почках крыс-самцов не отмечено. ЛЛЛФ борхлорина вызывала дозозависимое и обратимое к 30-м суткам изменение клеток ретикулоэндотелиальной системы (в селезенке и лимфатических узлах крыс), что выражалось в большом числе измененных увеличенных макрофагов, предположительно фагоцитировавших липосомы с борхлорином. Определены уровни токсических доз: суммарные дозы 5 и 10 мг/кг охарактеризованы как высокие нетоксические дозы, т. е. дозы, не вызывающие нарушений в органах и тканях животных; суммарная доза 30 мг/кг охарактеризована как низкая токсическая доза, вызывающая слабые изменения в органах и тканях животных, обратимые к концу наблюдения. Препарат во всех изученных дозах не вызывал функциональных и морфологических изменений в сердце и поджелудочной железе крыс.

Заключение. ЛЛЛФ борхлорина рекомендована для дальнейшего изучения.

Г.Б. Лапа, Н.И. Моисеева

3-АМИНО-ИЗОХИНОЛИНЫ – НОВЫЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ ИНГИБИТОРЫ ФОСФОДИЭСТЕРАЗЫ 4B (PDE4B)

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Фосфодиэстераза 4B (PDE4B) является составной частью сигналосомы некоторых GPCR-рецепторов, например глюкагона, и участвует в регуляции уровня циклического аденозинмонофосфата. В линиях HCT116, HKe3, MOLT-4, в изолятах карцином толстого кишечника, прямой кишки и некоторых форм лейкемий наблюдается гиперэкспрессия изоформ PDE4 (A, B, D и др.), что влияет на дезрегуляцию уровня циклического гуанозинтрифосфата, обусловленную KRAS- или NRAS-онкогенами. Ряд спазмолитиков – ингибиторов PDE показали слабый цитотоксический эффект (папаверин IC_{50} 9,0 μM на HCT116) и очень слабый противоопухолевый эффект на ксенографтах (силденафил). Нами ранее синтезирована первичная комбинаторная библиотека на основе виртуального скрининга на ингибирование PDE. Проведен ее первичный скрининг в MTT-тесте на линиях HCT116 и K562.

Цель исследования – накопление информации по соотношению структура – активность (SAR) для 3-аминоизохинолинов (структурных аналогов папаверина) для того, чтобы синтезировать и скринировать лидерные соединения, активные в MTT-тесте на линиях HCT116, K562 и в тестах *in vivo;* найти для лидерных соединений основную молекулярную мишень, определяющую цитотоксический эффект.

Материалы и методы. Виртуальный скрининг провели в PASS-online и докингом (AutoDockTools-Vina). Библиотека разработана на основе скаффолда – 1-метил-3-амино-6,7-диметокси-изохинолина синтезом амидов и уреидов. MTT-тест проводили на линиях HCT116, K562. Соединения с IC_{50} менее 10 μM передавали для фенотипического скрининга на 3DF-линиях Hke3-wt KRAS с PDE4A и Hke3-mt KRAS с PDE4B, а также для определения чувствительности к 60 клеточным линиям DTP (NCI).

Результаты. В виртуальном скрининге отбирались виртуальные соединения с вероятностью проявления ингибирующей PDE-активности выше 0,4, а также способные образовывать водородные связи между их метоксилами и Phe372, Gln369 активного центра PDE4D (3IAK. pdb). Синтезированные уреиды 3-амино-изохинолина имели плохую растворимость, а также низкую активность в MTT-тесте: IC_{50} более 50 μM. Амиды проявили лучшую растворимость в диметилсульфоксиде и бóльшую активность на HCT116 в сравнении с K562. SAR показало, что паразамещенные амиды, в том числе и п-аминобензойной кислоты, были более активны по сравнению с мета-изомерами. В первичном MTT-тесте были отобраны 3 лидерных соединения: LGB-012E, LGB-014E и LGB-086. Дальнейший скрининг выявил, что LGB-014E имело GI_{50} 1,9 μM на T-47D в тестах DTP (NCI), а LGB-086 имело IC_{50} 0,9 μM на HCT116. Все 3 соединения показали ингибирование роста только на 3DF Hke3-mt KRAS-линиях от 38 до 60 % при 50 μM. Чтобы показать биоактивность скаффолда были синтезированы амиды, в которых 3-амино-изохинолин был заменен похожим по геометрии и размерам 2-аминонафталином. Амиды 2-амино-нафталина проявили меньшую на 30 % активность в MTT-тесте.

Заключение. На основании вторичного MTT-скрининга были отобраны 2 лидерных соединения: LGB-014E и LGB-086. Поскольку эти соединения ингибируют рост только на 3DF Hke3-mt KRAS-линиях, то основной молекулярной мишенью является PDE4B. Активность соединений обусловлена именно присутствием 1-метил-3-амино-6,7-диметокси-изохинолинового фрагмента.

А.А. Липенгольц[1, 2], А.А. Черепанов[1, 2], Е.Ю. Григорьева[1], В.Н. Кулаков[2]

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСА ВИСМУТА С ДИЭТИЛЕНТРИАМИНПЕНТАУКСУСНОЙ КИСЛОТОЙ В БИНАРНОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

[1]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;
[2]ФГБУ ГНЦ «ФМБЦ им. А.И. Бурназяна», Москва

Введение. Бинарная лучевая терапия является перспективным таргетным избирательным методом лечения злокачественных новообразований. В основе метода лежит преимущественное взаимодействие внешнего рентгеновского излучения с химическими элементами, имеющими порядковый номер в периодической таблице более 52. Такое взаимодействие обеспечивает избирательное поражение только опухолевых тканей при облучении. Вероятность взаимодействия рентгеновского излучения с химическими элементами возрастает с увеличением порядкового номера элемента. Висмут является химическим элементом с самым высоким порядковым номером из всех стабильных химических элементов. По этой причине перспективным может быть применение комплексов висмута в бинарной лучевой терапии злокачественных новообразований.

Цель исследования – изучение протвоопухолевой эффективности комплекса висмута с диэтилентриаминпентауксусной кислотой ДТПА (Bi-DTPA) в бинарной лучевой терапии опухолей.

Материалы и методы. Исследование проводили на мышах-самках линии C57BL6 с трансплантированными в правую заднюю голень опухолями. В качестве опухолевых моделей были использованы аденокарцинома молочной железы Ca755 и меланома B16F10. Облучение проводили на 8–9-е сутки после перевивки по достижению объема опухолей $0,3 \pm 0,1$ см^3. Непосредственно перед облучением животным интратуморально вводили исследуемый комплекс в объеме 0,05 мл. Облучение проводили на рентгеновском аппарате с напряжением 110 кВ и мощностью дозы в позиции облучения 0,8 Гр/мин. Величина поглощенной дозы для меланомы B16F10 составляла 20 Гр, а для аденокарциномы молочной железы Ca755 – 15 Гр. Контролем в исследовании служили группы животных, облученных в той же дозе излучения, что и опытные группы, а также группа, на которую никакого воздействия не осуществлялось.

Результаты. Оценку противоопухолевого эффекта проводили по индексу торможения роста опухоли (ТРО) и по логарифму погибших клеток (LgN). В опытных группах ТРО на 14-е сутки после облучения составило 90 и 91 % для B16F10 и Ca755 соответственно, тогда как в контрольных облученных группах – 77 и 73 % соответственно. LgN для опытных групп с B16F10 и Ca755 составил 2,79 и 1,27 соответственно, в облученных контрольных группах – 0,66 и 1,08 соответственно.

Заключение. Полученные результаты показывают значимое увеличение противоопухолевого эффекта рентгеновского облучения при введении комплекса висмута с ДТПА и говорит о перспективности использования комплекса висмута в бинарной лучевой терапии.

Н.А. Лыжко[1, 2], Ю.П. Финашутина[1, 2], В.А. Мисюрин[1, 2], О.Н. Солопова[1], А.В. Мисюрин, Л.А. Кесаева[1, 2], О.С. Бурова[1], М.А. Барышникова[1]

ЦИТОСТАТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ 5D3F2 И 6H8F12 К БЕЛКУ PRAME ПРИ ИХ СОВМЕСТНОМ ИНКУБИРОВАНИИ С КУЛЬТУРАМИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

[1]ФБГУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва; [2]ООО «ГеноТехнология», Москва

Введение. Белок PRAME может быть перспективной мишенью для противоопухолевой иммунотерапии, так как не экспрессируется в здоровых клетках, но активен в опухолевых клетках многих гистологических типов. Нами были разработаны мышиные моноклональные антитела (МоАТ) 5D3F2 и 6H8F12, распознающие эпитопы PRAME.

Цель исследования – определение эффектов, оказываемых МоАТ 5D3F2 и 6H8F12 на PRAME-экспрессирующие опухолевые клетки.

Материалы и методы. Использовали линии опухолевых клеток K562, THP-1 и NOMO-1. Методом RQ-PCO определяли уровень экспрессии гена *PRAME*. Количество клеток, имеющих эпитопы белка PRAME на поверхности, определяли на проточном цитометре. Проводили инкубирование опухолевых клеток с МоАТ 5D3F2 и 6H8F12 вместе и по отдельности в концентрациях 111 и 112 мкг/мл, 11 и 12 мкг/мл соответственно. Проводили подсчет клеток после инкубирования с МоАТ. Количество мертвых клеток оценивали при проведении МТТ-теста.

Результаты. Уровень экспрессии гена *PRAME* в клетках линий K562, THP-1 и NOMO-1 составил 104; 1,6 и 0,5 % соответственно. Количество клеток K562, THP-1 и NOMO-1, имеющих белок PRAME на поверхности, составило 14; 3 и 0,9 % соответственно. При инкубировании клеток K562 и THP-1 с МоАТ 5D3F2 и 6H8F12 вместе и по отдельности в концентрации 11 и 12 мкг/мл соответственно наблюдалось замедление роста на 15–20 % и гибель 15–20 % клеток. При инкубировании K562 и THP-1 с МоАТ 5D3F2 и 6H8F12 вместе и по отдельности в концентрации 111 и 112 мкг/мл соответственно наблюдалось замедление роста на 50 % и гибель 4 % клеток. При инкубировании NOMO-1 с МоАТ 5D3F2 и 6H8F12 вместе в концентрации 11 и 12 мкг/мл соответственно наблюдалось замедление роста на 30 % и гибель 10 % клеток. При инкубировании NOMO-1 с МоАТ 5D3F2 в концентрации 111 мкг/мл замедления роста не наблюдалось; с 6H8F12 в концентрации 112 мкг/мл – наблюдалось замедление роста на 30 % и не происходило гибели клеток.

Заключение. Обнаружено цитостатическое и цитотоксическое действие МоАТ 5D3F2 и 6H8F12 в концентрации 111 и 112 мкг/мл, оказываемое на опухолевые клетки линий K562, THP-1 и NOMO-1. Меньшая концентрация в некоторых случаях оказывала более выраженный эффект. При инкубировании опухолевых клеток со смесью МоАТ усиления эффектов не наблюдалось. Чем выше уровень экспрессии гена *PRAME* в клетках и чем большее число клеток имело на поверхности эпитопы PRAME, тем больший эффект оказывали МоАТ. Цитотоксичность МоАТ в отсутствие белков комплемента и иммунных клеток мо-

жет объясняться рецепторной функцией белка PRAME, находящегося на поверхности опухолевой клетки.

А.А. Макашов, А.П. Козлов

РАЗЛИЧНЫЕ КЛАССЫ ОПУХОЛЕАССОЦИИРОВАННЫХ ГЕНОВ ЧЕЛОВЕКА ОБЛАДАЮТ РАЗЛИЧНОЙ ЭВОЛЮЦИОННОЙ НОВИЗНОЙ

Биомедицинский центр, Санкт-Петербург;
ФГАОУ ВО СПбПУ, Санкт-Петербург

Введение. Ранее мы показали, что человеческий геном содержит многие эволюционно новые гены и/или нуклеотидные последовательности, которые экспрессируются опухолеспецифически либо преимущественно в опухолях.

Цель исследования. В данной работе планировалось изучить эволюционную новизну различных классов опухолеассоциированных генов человека.

Материалы и методы. Были изучены следующие функциональные классы генов человека: гены домашнего хозяйства; онкогены; дифференцировочные гены; гены опухолевых супрессоров; гены, ассоциированные с различными опухолями; гены опухолевых антигенов, отобранных для создания противоопухолевой вакцины; гомеозисные гены; гены, вовлеченные в апоптоз; гены раково-тестикулярных антигенов; белковые гены и гены некодирующих РНК с высокой опухолеспецифичностью, выявленные нами с помощью метода глобального вычитания *in silico* (ГВ); все аннотированные белоккодирующие гены человека. Для определения эволюционной новизны вышеперечисленных генов были применены программы HomoloGene. release68, ProteinHistorian, BLAST и HMMER.

Результаты. Для каждого функционального класса генов была построена кривая филогенетического распределения их ортологов. Самое верхнее расположение на графике заняла кривая, описывающая филогенетическое распределение ортологов генов домашнего хозяйства. Ниже нее расположились кривые филогенетического распределения ортологов дифференцировочных генов, онкогенов, генов, ассоциированных с различными опухолями, и генов опухолевых супрессоров. Эта группа кривых формирует первый кластер. Промежуточное положение на графике занимает кривая распределения ортологов всех белоккодирующих генов человека. Под ней располагается второй кластер, включающий в себя кривые филогенетического распределения генов апоптоза, гомеозисных генов, опухолевых антигенов и белковых генов, выявленных с помощью ГВ. Самое нижнее положение на графике занимает группа кривых таксономического распределения ортологов генов раково-тестикулярных антигенов (всех и расположенных только на Х-хромосоме), генов некодирующих РНК, выявленных ГВ. Эта группа является 3-м кластером, включающим в себя эволюционно наиболее новые гены.

Заключение. Нами обнаружено, что различные классы опухолеассоциированных генов обладают различной эволюционной новизной. Мы подтвердили существование генов *TSEEN (tumor specifically expressed, evolutionarily novel)*. Параллельная эволюция онкогенов, генов опухолевых супрессоров и дифференцировочных генов свидетельствует о роли опухолей в происхождении новых клеточных типов. Разобщенность кривых, принадлежащих к первому и второму кластерам, свидетельствует о разобщенности процессов образования новых типов клеток и морфогенеза. Различные подклассы генов *TSEEN* принадлежат к описанному нами выше 3-му кластеру.

С.Ю. Маклакова, В.В. Гопко, Г.А. Шипулин, Т.С. Зацепин, Е.К. Белоглазкина, Н.В. Зык, А.Г. Мажуга, В.Э. Котелянский

СИНТЕЗ ЛИГАНДОВ АСИАЛОГЛИКОПРОТЕИНОВОГО РЕЦЕПТОРА ДЛЯ НАПРАВЛЕННОЙ ДОСТАВКИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В КЛЕТКИ ПЕЧЕНИ

ФГАОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва

Введение. Паренхимными клетками печени в больших количествах (0,5–1 млн на 1 гепатоцит) экпрессируется асиалогликопротеиновый рецептор (ASGPR). Способность ASGPR переносить через мембрану высокомолекулярные структуры, его уникальное расположение исключительно на поверхности гепатоцитов, высокая степень экспрессии, быстрый цикл регенерации делают его перспективной мишенью для адресной доставки биологически активных веществ в паренхимные клетки печени. Исходя из структурных особенностей рецептора, ранее были предложены молекулы-векторы разветвленного строения, содержащие 3 остатка галактозы или N-ацетилгалактозамина. Такие тривалентные лиганды продемонстрировали высокую аффинность по отношению к рецептору-мишени.

Цель исследования – синтез тривалентных лигандов ASGPr и исследование возможности получения конъюгатов на их основе с помощью медькатализируемой реакции азид-алкинового циклоприсоединения.

Материалы и методы. Состав и строение полученных соединений подтверждали с помощью спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР) и масс-спектрометрии. ЯМР-спектры ^{1}H и ^{13}C регистрировали на приборах Bruker DPX-300 и Agilent 400 MR с частотами 400 и 100 МГц. Масс-спектры высокого разрешения регистрировали на приборе Bruker micrOTOF II методом электрораспылительной ионизации (ESI). В работе использовали коммерческие реактивы (Sigma-Aldrich) без дополнительной очистки.

Результаты. Нами оптимизирована общая методика получения тривалентных лигандов ASGPr, универсальность которой была продемонстрирована на примере синтеза структур, содержащих различные углеводные остатки (N-ацетилгалактозамин, N-ацетилглюкозамин и N-ацетилманнозамин). Использованный подход позволяет получать лиганды с азидной группой, что открыло возможность конъюгирования данных соединений-векторов с модельным олигонуклеотидом dT_{20}, содержащим терминальную тройную связь, с помощью медькатализируемой реакции азид-алкинового циклоприсоединения.

Заключение. Лиганды, полученные в результате данной работы, обладают высоким потенциалом как векторные фрагменты для направленной доставки биологически активных веществ в клетки печени. Введение азидной группы в структуру позволяет селективно и с высокими выходами получать конъюгаты с терапевтическими молекулами.

Работа выполена при поддержке РНФ (грант № 14-34-00017).

И.А. Мамичев, Т.А. Богуш, Е.А. Дудко, С.А. Калюжный, О.М. Рябинина, А.Н. Гришанина, Б.Е. Полоцкий, М.М. Давыдов

ЭКСПРЕССИЯ БЕТА-III ТУБУЛИНА В ТКАНИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА И ОКРУЖАЮЩЕЙ НОРМАЛЬНОЙ ТКАНИ ЛЕГКОГО

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Бета-III тубулин (TUBB3) является одной из 7 изоформ структурного белка микротрубочек бета-тубулина, экспрессия которых характерна для всех позвоночных. Данный белок не встречается в большинстве здоровых тканей организма, за исключением нейронов, эмбриональных тканей и клеток Сертоли, но зачастую регистрируется в солидных опухолях, где его экспрессию обычно связывают с неблагоприятным прогнозом и устойчивостью к терапии препаратами платины и таксанами.

Цель исследования. Авторы предположили, что TUBB3 может экспрессироваться не только в первичном опухолевом узле, но и далеко за его пределами. Для проверки этой гипотезы был проведен анализ содержания TUBB3 в тканях немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ), а также в морфологически нормальных тканях легкого, находящихся на разном отдалении от первичного опухолевого узла в пределах одной доли.

Материалы и методы. Всего было проанализировано 87 хирургических биопсийных образцов тканей 35 пациентов с НМРЛ. Образцы переводили в одноклеточную суспензию, инкубировали с первичными (ab7751) антителами в течение ночи и затем 1,5 ч с вторичными (ab98729) антителами, конъюгированными с DyLight650. Анализ флуоресценции проводили методом проточной цитофлуориметрии. Количественную обработку данных выполняли с помощью программы FlowJo. Уровень экспрессии TUBB3 (количество специфически окрашенных клеток относительно показателя при инкубации с вторичными антителами) анализировали с помощью статистического критерия Колмогорова–Смирнова.

Результаты. 1. Во всех случаях экспрессия TUBB3 в ткани НМРЛ превышала экспрессию этого белка в окружающей морфологически нормальной ткани легкого. 2. Экспрессия TUBB3 выше порогового уровня (15 % окрашенных клеток) выявлена в 86 % опухолей (от 16 до 62 %, среднее значение – 39,9 ± 9,5 %). 3. В морфологически нормальной ткани легкого TUBB3 детектируется в 57 % опухолей (от 16 до 39 %, среднее значение – 25,4 ± 6,7 %). 4. Уровень экспрессии TUBB3 не зависел от удаленности исследуемого участка от первичного опухолевого узла (22,4 ± 6,6 и 22,8 ± 6,0 % для прилежащей и отдаленной ткани соответственно; $p > 0,05$).

Заключение. 1. С учетом имеющихся данных о тканеспецифической экспрессии TUBB3 его появление в морфологически нормальной ткани легкого может быть как следствием расселения клеток из первичной опухоли, так и свидетельством наличия множественных фокусов трансформированных клеток по всей доле легкого – возможных предшественников первичного опухолевого узла. 2. Выявление TUBB3 в нормальной ткани, окружающей очаг НМРЛ, может являться маркером, уточняющим тактику адъювантной терапии, особенно на начальных стадиях этого заболевания.

Работа поддержана РФФИ (гранты № 15-04-06991-а и № 16-34-01049 мол-а).

А.А. Маркович, Г.С. Емельянова, А.Г. Маргарян

ПРИМЕНЕНИЕ АНАЛОГОВ СОМАТОСТАТИНА В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ДИССЕМИНИРОВАННЫМИ ВЫСОКОДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫМИ НЕЙРОЭНДОКРИННЫМИ ОПУХОЛЯМИ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва; ГБОУ ВПО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, Москва

Введение. Нейроэндокринные опухоли (НЭО) – гетерогенная группа редких, медленно растущих новообразований, происходящих из нейроэндокринных клеток. Часть НЭО способны секретировать биологически активные вещества/гормоны, такие как серотонин, инсулин, гастрин, адренокортикотропный гормон, глюкагон и др., что приводит к возникновению разнообразных симптомов и синдромов. Все пациенты с продуцирующими НЭО нуждаются в длительном применении аналогов соматостатина (АС), которые являются антисекреторными препаратами и используются для системной терапии карциноидного и других синдромов. На основании мультицентровых международных рандомизированных исследований PROMID и CLARINET была доказана антипролиферативная активность АС и отменены ранее действовавшие ограничения по использованию препаратов только для симптоматической терапии. Отечественные пролонгированные формы АС, такие как Октреотид-Депо™ (ЗАО «Фарм-синтез») и Октреотид ЛОНГ™ (ЗАО «Ф-синтез»), получили широкое распространение в практике онкологов. По данным клинических исследований, препараты имеют благоприятный профиль токсичности, сопоставимый с зарубежным аналогом Сандостатином ЛАР™. Практикуется индивидуальный подбор доз препаратов для длительного применения и тактика повышения доз для преодоления тахифилаксии. Пролонгированные АС могут применяться в монотерапии и совместно с α-интерферонами (ФН), химиотерапией, таргетной терапией.

Цель исследования – изучить эффективность, токсичность и отдаленные результаты лечения больных высокодифференцированными распространенными НЭО с применением отечественных АС.

Материалы и методы. Лечение отечественными АС получали 25 больных: Октреотид-Депо™ – 15, Октреотид ЛОНГ™ – 10; женщины – 18 (72 %), мужчины – 7 (28 %); средний возраст 57 лет (19–74 года). Grade: G1–5 (20 %), G2–15 (60 %), G неизвестно – 5 (20 %). Локализация первичного очага: поджелудочная железа – 6 (24 %), тонкая кишка – 5 (20 %), толстая кишка – 4 (16 %), аппендикс – 1 (4 %), без выявленного первичного очага – 9 (36 %). Дозы: 20 мг – 6 (24 %), 30 мг – 10 (40 %), 30–40 мг – 9 (36 %); в сочетании с ИФ – 9 (36 %), монотерапия – 16 (64 %). Линии терапии: 1-я – 8 (32 %), 2-я – 13 (52 %), 3-я – 4 (16 %).

Результаты. Эффективность: частичная регрессия – 1 (4 %), стабилизация – 13 (87 %), полная регрессия – 5 (7 %); медиана времени до прогрессирования составила 17 мес

(доверительный интервал 9,6–24.7). Выживаемость без прогрессирования: 1 год – 65 %, 2 года – 35 %. Токсичность I–II степени: тромбоцитопения – 2 (8 %), гриппоподобный синдром – 3 (12 %) при совместном применении с ИФН; диарея – 1 (4 %), тошнота – 5 (20 %), слабость – 5 (20 %).

Заключение. Отечественные АС имеют высокую эффективность и удовлетворительную переносимость. Препараты должны рассматриваться как стандарт медицинской помощи для симптоматической и противоопухолевой терапии высокодифференцированных НЭО.

Е.А. Маслюкова, С.И. Заброда, Л.И. Корытова, Г.А. Раскин, О.В. Корытов, Е.М. Обухов, В.И. Сергеев

АЛЬДЕГИДДЕГИДРОГЕНАЗА 1 (ALDH1) У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ФГБУ РНЦРХТ Минздрава России, Санкт-Петербург

Введение. Несмотря на прогресс в лечении рака молочной железы (РМЖ) с помощью комбинированного подхода с учетом морфологических данных, отдаленные метастазы могут развиться у 30–90 % пациентов с первичным РМЖ, даже на ранних его стадиях. По одной из версий, частично объяснить неэффективность лечения могла бы теория раковых стволовых клеток (cancer stem cells). Это теория предполагает, что рак может возникать и развиваться из небольшой части стволовых клеток, которые способны вызывать рост опухоли, а также влиять на резистентность к химио- и лучевой терапии.

Цель исследования – изучение экспрессии *ALDH1* в опухолевых клетках у больных РМЖ.

Материалы и методы. В исследование были включены 83 пациентки с местно-распространенным РМЖ (T1–4N0–3M0), получавших лечение с 2005 по 2009 г. Для анализа использовали иммуногистохимическое окрашивание биопсийного материала первичной опухоли. Иммуногистохимическое исследование выполняли по стандартному протоколу. Использовали кроличье моноклональное антитело ALDH1 (клон EP1932Y) фирмы Epitomics в разведении 1:200. Оценку иммуногистохимического окрашивания осуществляли путем подсчета числа позитивных клеток относительно общего числа опухолевых клеток. Количество окрашенных клеток > 1 % относилось к группе с высоким содержанием стволовых опухолевых клеток (группа 1), < 1 % – с низким содержанием (группа 2). В группу 1 вошли 16, в группу 2 – 67 пациенток. По течению заболевания пациенток разделили на группу благоприятного прогноза – 20 больных, которые не имели метастазов в течение 5 лет после хирургического лечения, и группу неблагоприятного прогноза – 63 пациентки, у которых метастазы возникли в течение 5 лет.

Результаты. Большинство больных в обеих группах (80,7 %) имели гормоноположительные опухоли и относились к подтипам люминальный А и люминальный В. В группе больных, где метастазы не возникли в течение 5 лет, низкие значения Ki-67 (< 14) встречались достоверно чаще, чем в группе плохого прогноза ($p = 0,0123$). В группе больных с благоприятным прогнозом (отсутствие метастазов в течение 5 лет) стволовые опухолевые клетки не были выявлены ни в одном случае. В группе пациенток с неблагоприятным прогнозом (у всех в течение 5 лет появились отдаленные метастазы) высокое содержание ADHL1 установлено в 16 образцах опухолевой ткани, взятой при биопсии. Это свидетельствует о прогностической значимости данного маркера ($p = 0,0121$).

Заключение. Настоящее исследование подчеркивает важность статуса ALDH1 в исследовании стволовых раковых клеток и определяет ALDH1 как потенциальный прогностический маркер и, возможно, в будущем – терапевтическую мишень для лечения больных РМЖ.

Е.А. Маслюкова, С.И. Заброда, Л.И. Корытова, Г.А. Раскин, О.В. Корытов, Е.М. Обухов, В.И. Сергеев

ЭКСПРЕССИЯ ОСТЕОПРОТЕГЕРИНА В ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ РЕЦЕПТОРНЫМ СТАТУСОМ

ФГБУ РНЦРХТ Минздрава России, Санкт-Петербург

Введение. Несмотря на значительный прогресс в исследовании рака молочной железы (РМЖ), разделение на молекулярные подтипы, механизмы образования метастазов у больных РМЖ остаются до конца не изученными, особенно при наличии благоприятного прогноза. Изучение новых информативных прогностических маркеров по-новому представляет современные проблемы патологии РМЖ.

Цель исследования – изучить уровень экспрессии остеопротегерина (OPG) в клетках опухоли у больных РМЖ, имеющих положительные рецепторы эстрогенов и прогестерона.

Материалы и методы. В исследование были включены 72 пациентки с РМЖ (T2–4N0–3M0), получавшие лечение с 2003 по 2010 г. В целях изучения уровня OPG проводили иммуногистохимическое исследование по стандартному протоколу на срезах биопсийного материала. Использовали кроличье поликлональное антитело к OPG фирмы GeneTex, разведение 1:1000, инкубация 30 мин; систему визуализации фирмы DAKO, Real EnVision, anti-rabbit. Оценку иммуногистохимического окрашивания осуществляли путем подсчета числа позитивных клеток относительно общего числа опухолевых клеток.

Результаты. Экспрессия OPG более чем в 50 % клеток расценивалась как высокая, менее 50 % – низкая. По уровню экспрессии больные были разделены на 2 группы: 1-я – с высоким OPG (high), 2-я – с низкой экспрессией OPG (low). В группу OPG (high) вошли 44 пациентки, в группу OPG (low) – 28. Не было отмечено каких-либо достоверных различий в отношении наличия или отсутствия пораженных регионарных лимфатических узлов, категории T и индекса Ki-67 в отношении экспрессии OPG. Анализ зависимости времени до возникновения метастазов от уровня экспрессии OPG показал достоверное уменьшение времени до прогрессирования заболевания при низкой экспрессии OPG (low) у больных РМЖ по сравнению с группой больных с высокой экспрессией OPG (high) ($p < 0,05$). Аналогичная закономерность наблюдалась при оценке общей выживаемости. Выживаемость больных, у которых опухолевые клетки имели высокую экспрессию OPG (>50 %), была статистически выше, чем в группе больных, где выявлялась низкая экспрессия OPG (< 50 %). Достоверность различий между кривыми выживаемости подтверждалась тестами Gehan's Wilcoxon и Cox, $p < 0,05$.

Заключение. Определение уровня OPG в клетках РМЖ с наличием положительного рецепторного статуса дает дополнительную возможность прогнозировать течение РМЖ. Установлено различие в выживаемости и времени до прогрессирования (возникновения метастазов) у пациентов с низкой экспрессией OPG по сравнению с аналогичными показателями у больных с высокой экспрессией OPG.

Е.А. Маслюкова, С.И. Заброда, Л.И. Корытова, Г.А. Раскин, О.В. Корытов, Е.М. Обухов, В.И. Сергеев

РОЛЬ RANK-МАРКЕРА (РЕЦЕПТОРА АКТИВАЦИИ НУКЛЕАРНОГО ФАКТОРА кВ) У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ РЕЦЕПТОРНЫМ СТАТУСОМ

ФГБУ РНЦРХТ Минздрава России, Санкт-Петербург

Введение. RANK – это трансмембранный белок, экспрессия которого первоначально была обнаружена только в дендритных клетках и зрелых остеокластах. Данные исследования подтверждали важность роли белка RANK в развитии остеолитических метастазов в кости. На примере семейного рака Педжета была показана значимость системы RANK/RANKL и, как следствие, роль RANK-маркера в пролиферирующих клетках опухоли.

Цель исследования – выявить зависимости между выраженностью уровня экспрессии RANK в опухолевых клетках рака молочной железы (РМЖ) и положительным рецепторным статусом, временем до прогрессирования (возникновения метастазов), выживаемостью, клинико-морфологическими особенностями опухоли.

Материалы и методы. В исследование были включены 72 пациентки с РМЖ (T2–4N0–3M0), получавшие лечение с 2003 по 2010 г. Для анализа использовали иммуногистохимическое окрашивание материала первичной опухоли, полученного в результате биопсии. Оценку уровня RANK осуществляли путем подсчета числа позитивных клеток относительно общего числа опухолевых клеток. Экспрессия более чем в 5 % клеток расценивалась как высокая, менее 5 % – низкая. По уровню экспрессии больные были разделены на 2 группы: 1-я – с высоким RANK (high), 2-я – с низкой экспрессией RANK (low). В группу RANK (high) вошли 35 пациенток, в группу RANK (low) – 37.

Результаты. Уровень экспрессии RANK в опухолевых клетках колебался от 0 до 90 %. Среднее значение уровня экспрессии RANK в опухолевых клетках РМЖ составило 18,7 %, медиана – 5 %. Минимальное значение – 0 %, максимальное – 90 %. Анализ зависимости времени до возникновения метастазов от экспрессии RANK показал статистически достоверное уменьшение времени до прогрессирования заболевания при низкой экспрессии RANK (low) у больных РМЖ по сравнению с группой больных, с высокой экспрессией RANK (high) ($p < 0,05$). Выживаемость больных, у которых опухолевые клетки имели высокую экспрессию RANK, была статистически достоверно выше, чем в группе с низкой экспрессией RANK ($p < 0,05$).

Заключение. Определение уровня RANK в клетках РМЖ с положительным рецепторным статусом дает дополнительную возможность прогнозировать течение РМЖ (выживаемость и время до прогрессирования).

Е.А. Маслюкова[1], Л.И. Корытова[1], О.В. Корытов[1], Т.С. Хлыстова[2], Н.Д. Олтаржевская[2], М.О. Мясникова[1], А.В. Бондаренко[1], Е.М. Обухов[1], В.В. Балакшин[3], Г.А. Преснова[3]

ПРИМЕНЕНИЕ МАТЕРИАЛА ГИДРОГЕЛЕВОГО НА ОСНОВЕ АЛЬГИНАТА НАТРИЯ С БЕТУЛИНСОДЕРЖАЩИМ ЭКСТРАКТОМ БЕРЕСТЫ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

[1]ФГБУ РНЦРХТ Минздрава России, Санкт-Петербург;
[2]ООО «Колетекс», Москва;
[3]ООО «Березовый мир», Москва

Введение. Одной из постоянных ранних лучевых реакций в лучевой терапии (ЛТ) является эпидермит кожи. Материал гидрогелевый на основе альгината натрия с бетулинсодержащим экстрактом бересты и салфетка на текстильной основе с альгинатом натрия и бетулинсодержащим экстрактом бересты обладают антисептическим, иммуномодулирующим, ранозаживляющим действием и могут использоваться для закрытия поврежденных тканей и местного направленного действия введенных в гидрогели лекарств и биологически активных веществ.

Цель исследования – уменьшение числа и интенсивности ранних лучевых реакций со стороны кожи.

Материалы и методы. У пациенток, перенесших оперативное вмешательство в объеме простой мастэктомии или секторальной резекции в плане адъювантной терапии проводилась ЛТ в режиме среднего фракционирования, доза за фракцию 3 Гр до суммарной очаговой дозы (СОД) 42 Гр (СОДэкв 50 Гр). Исследовательская группа – 10 пациенток, которые в процессе ЛТ обрабатывали кожу материалом гидрогелевым с альгинатом натрия и бетулинсодержащим экстрактом бересты и использовали салфетки на текстильной основе с альгинатом натрия и бетулинсодержащим экстрактом бересты, контроль – 20 пациенток, которые не обрабатывали кожу.

Результаты. В группе контроля в конце ЛТ у 10 пациенток выявлен эпидермит I степени, у 5 – II степени, у 5 эпидермит отсутствовал. В исследовательской группе эпидермит II степени не установлен, эпидермит I степени выявлен у 6 пациенток, у 4 реакции со стороны кожи отсутствовали. При применении геля и салфеток с бетулинсодержащим экстрактом бересты не было отмечено непереносимости препарата.

Заключение. Материал гидрогелевый и салфетки на основе альгината натрия с бетулинсодержащим экстрактом бересты показали себя как средство профилактики ранних лучевых реакций у больных раком молочной железы.

Е.А. Маслюкова, А.В. Бондаренко, Л.И. Корытова, О.В. Корытов, Е.М. Обухов, С.Н. Буровцева, В.И. Сергеев

ПРИМЕНЕНИЕ МАТЕРИАЛОВ ГИДРОГЕЛЕВЫХ «КОЛЕТЕКС» ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ЭЗОФАГИТОВ, ИНДУЦИРОВАННЫХ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИЕЙ

ФГБУ РНЦРХТ Минздрава России, Санкт-Петербург

Введение. Ранние лучевые реакции со стороны пищевода вызваны повреждением слизистой оболочки и сопровождаются дисфагией. Поздние лучевые повреждения проявляются фиброзированием, образованием стриктур, изъязвлениями.

Материалы и методы. В исследование включено 40 пациенток с раком молочной железы, у которых проводилась лучевая терапия (ЛТ) с вовлечением надключичных и подключичных лимфатических узлов. Больные были разделены на 4 группы по 10 пациенток. В 1-й группе с целью профилактики больные получали материал гидрогелевый на основе альгината натрия с деринатом; во 2-й – после появления болей материал гидрогелевый с деринатом и лидокаином; в 3-й – многокомпонентный гель на основе альгината натрия с актовегином, гидрокортизоном, димексидом и мексидолом; 4-я группа – контрольная.

Результаты. В контрольной группе болевой синдром в виде болей в горле появлялся на дозе 18 Гр (после 6-го сеанса) и продолжался до 10 дней после окончания ЛТ, интенсивность боли в среднем составила 6–8 баллов. Во 2-й группе после появления болей применялся гель с деринатом и лидокаином, который уменьшал интенсивность болей в среднем с 6–8 до 2–3 баллов. В группе, где применялись гель с деринатом и многокомпонентный гель, боль возникла у 50 % пациентов на дозе в среднем 24 Гр, но интенсивность ее не превышала 2–3 баллов.

Заключение. Материал гидрогелевый на основе альгината натрия с деринатом и многокомпонентный гель с актовегином, димексидом, гидрокортизоном и мексидолом может использоваться для профилактики и лечения эзофагитов, индуцированных ЛТ.

Д.М. Матрасулова, Ж.А. Юлдашов

ХРОНИЧЕСКИЙ ПАНКРЕАТИТ И РАК ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ: ВОЗМОЖНОСТИ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ

Ургенчский филиал Ташкентской медицинской академии, Ургенч, Республика Узбекистан

Цель исследования – изучение возможностей простых и общедоступных методов дифференциальной диагностики хронического панкреатита (ХП) и рака поджелудочной железы (РПЖ).

Материалы и методы. Обследованы 23 пациента ХП: 13 – с псевдотуморозным панкреатитом (ПП), 10 – с хроническим кальцифицирующим панкреатитом (ХКП), 7 – с РПЖ. Средняя продолжительность заболевания ПП и ХКП была не менее 9 лет. Продолжительность заболевания при РПЖ не превышала 1 года. Во всех группах с одинаковой частотой у больных выявлялись механическая желтуха и сахарный диабет. Всем пациентам в сыворотке крови определяли маркер опухоли СА 19–9 радиоиммунологическим методом, активность липазы – турбидиметрическим методом, проводили ультразвуковое исследование (УЗИ) и компьютерную томографию (КТ) органов брюшной полости.

Результаты. Проведенные исследования показали, что у больных ПП, ХКП и РПЖ активность липазы была достоверно повышена по сравнению с контролем: 22,9 ± 3,2 мкмоль/мин × л; 33,6 ± 8,7 мкмоль/мин×л; 40,3 ± 11,4 мкмоль/мин × л и 14,7 ± 2,1 мкмоль/мин × л соответственно, $p < 0,05$. Уровень СА 19–9 у больных ХП был повышен по сравнению с контролем, но значительно большее повышение его имело место у пациентов с РПЖ: 30,7 ± 4,8 нг/мл; 45,2 ± 6,9 нг/мл; 331,0 ± 60,1 нг/мл; 11,7 ± 1,2 нг/мл соответственно, $p < 0,05$. По данным УЗИ для ПП было характерно увеличение головки до 4,0 см и более, причем при наличии РПЖ отмечалось наличие гипоэхогенной зоны в увеличенной головке, в то время как при ХП выявлялось диффузно неоднородное повышение эхогенности ткани. Кроме того, главный панкреатический проток, имеющий тенденцию к расширению в обоих случаях, при ПП имел извитóй характер, с неровными, утолщенными стенками, а для РПЖ был более характерен расширенный проток с ровными, тонкими стенками. При ХКП выявлялись множественные кальцификаты различных размеров: крупные – обычно в главном панкреатическом протоке, мелкие – в паренхиме железы. Данные, полученные при КТ, принципиально не отличались от данных УЗИ; но следует отметить целесообразность применения КТ в случаях затруднения диагностики при УЗИ.

Заключение. Таким образом, на первых этапах дифференциальной диагностики между ХП и РПЖ при стойком повышении активности липазы в крови показано проведение исследования крови на один из онкомаркеров, специфичных для РПЖ. В случае малой информативности УЗИ по каким-либо вышеописанным причинам следует проводить КТ брюшной полости.

Е.А. Матюнина[1, 2], А.В. Емельянов[3], А.П. Козлов[1, 2]

ЭВОЛЮЦИОННО НОВЫЕ ГЕНЫ ЭКСПРЕССИРУЮТСЯ В ОПУХОЛЯХ РЫБ, И ИХ ЧЕЛОВЕЧЕСКИЕ ОРТОЛОГИ ОПРЕДЕЛЯЮТ ПРОГРЕССИВНЫЕ ПРИЗНАКИ

[1]Биомедицинский центр, Санкт-Петербург;
[2]ФГАОУ ВО СПбПУ, Санкт-Петербург;
[3]IRCAN, Ницца, Франция

Введение. Ранее мы сформулировали гипотезу о возможной роли неофункционализации опухолей в эволюции. Нетривиальное предсказание данной гипотезы – то, что эволюционно молодые или новые гены экспрессируются в опухолях. Мы назвали такие гены *TSEEN* (эволюционно новые гены, экспрессирующиеся в опухолях).

Цель исследования – описать эволюционно новые гены, экспрессирующиеся преимущественно в опухолях трансгенных рыб после регрессии, а также их человеческие ортологи, которые определяют прогрессивные эволюционные признаки.

Материалы и методы. Мы анализировали выборку генов, которые активировались согласно данным глубокого секвенирования рибонуклеиновой кислоты в индуцибельной опухоли KrasV12 трансгенной рыбы данио рерио. Гены из данной выборки продолжали экспрессироваться после регрессии гепатоклеточной карциномы при инактивации Kras. Поиск ортологов данных генов проводили с использованием различных подходов, таких как blastx и psiblast, с критерием evalue 10^{-3} и покрытием выравнивания более 50 %.

Результаты. Мы обнаружили, что значительное число генов с опухолеспецифическим паттерном экспрессии являются относительно эволюционно новыми, т. е. не имеют ортологов у миног. У человека имеют ортологи 226 таких «новых» генов. Для характеристики функции данных генов использовали ресурсы генной онтологии (gene orthology, GO). Согласно данным GO некоторые гены имеют функ-

ции, не свойственные рыбам. К примеру, гены *ccdc40*, *lmx1ba*, *lepa*, *tgfbr2* и *irs1* приобретают функции в легком, эмбриональной матке, плаценте млекопитающих, молочной железе, т. е. в органах, появляющихся у животных более высоких таксонов, чем рыбы. Среди известных функций человеческих ортологов эволюционно новых (относительно миноги) генов данио рерио представлены некоторые важные морфогенетические функции. Функциональная кластеризация данных генов позволила сделать вывод о том, что значительная их часть связана с развитием глаза, сердца, легкого и мозга. Сходный анализ 226 рыбьих генов не выявляет такого функционального обогащения морфогенетическими функциями. Это указывает на то, что *TSEEN*-гены рыб могут являться протогенами, которые приобретают дополнительные функции в дальнейшей эволюции высших позвоночных.

Заключение. Таким образом, гены, определяющие прогрессивные признаки у человека, могли возникнуть как протогены у рыб, и впервые экспрессировались в опухолях рыб, что согласуется с нашей гипотезой.

А.Э. Мачулкин[1], А.С. Гаранина[2], И.И. Киреев[3], И.Б. Алиева[3], Е.К. Белоглазкина[1], Н.В. Зык[1], В.Э. Котелянский[1], А.Г. Мажуга[1, 2]

СИНТЕЗ КОНЪЮГАТОВ – ИНГИБИТОРОВ ПРОСТАТИЧЕСКОГО СПЕЦИФИЧЕСКОГО МЕМБРАННОГО АНТИГЕНА С ДОКСОРУБИЦИНОМ ДЛЯ ТЕРАПИИ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

[1]Химический факультет ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва;
[2]НИТУ МИСиС, Москва;
[3]НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва

Введение. В настоящее время активно развиваются методы направленной доставки лекарственных средств и диагностических агентов непосредственно в очаг опухоли, в том числе в очаг опухоли предстательной железы. Так, открытый в 1980-х годах простатический специфический мембранный антиген (ПСМА) привлек значительное внимание ученых в связи с тем, что в основном он экспрессируется в тканях предстательной железы, а в случае возникновения ее опухоли происходит гиперэкспрессия этого антигена. Данный факт может быть использован для селективной доставки противоопухолевых препаратов непосредственно в ткани опухоли и ее метастазы, а также для развития способов ранней диагностики рака предстательной железы.

Цель исследования – синтез конъюгатов противоопухолевого препарата доксорубицина с тканеспецифическим лигандом для направленной доставки препарата непосредственно в опухоль предстательной железы и его биологическое тестирование.

Материалы и методы. Все полученные вещества были охарактеризованы с помощью метода 1Н-ядерной магнитно-резонансной спектроскопии, структура и чистота конечных конъюгатов были также подтверждены методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии.

Результаты. В настоящей работе были синтезированы и охарактеризованы 3 конъюгата. В данных соединениях фрагмент, обеспечивающий селективное связывание с ПСМА (вектор), соединен с активным веществом (доксорубицин) – линкером, обеспечивающим его высвобождение внутри клетки. В качестве группы, способной к расщеплению во внутриклеточной среде, был использован гидразонный фрагмент соответствующего производного доксорубицина, который расщепляется в слабокислых средах.

Заключение. В результате данной работы получены 3 конъюгата на основе уреида глутаминовой кислоты и лизина с противоопухолевым препаратом доксорубицином. Исследована токсичность конъюгатов противоопухолевого препарата доксорубицина на клеточных линиях LNCaP и PC-3. Для соединения-лидера показаны значения параметра IC5093 нМ (LNCaP) и 926 нм (PC-3).

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (РНФ № 14-34-00017) и Программы развития МГУ (ПНР 5.13).

И.Б. Меркулова, Т.В. Абрамова, О.И. Коняева, Н.Ю. Кульбачевская, В.А. Чалей, Н.П. Ермакова, В.М. Бухман

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ КРЫС И СОБАК ПРИ ИЗУЧЕНИИ СУБХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ОРМУСТИНА

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Лиофилизированная лекарственная форма Ормустина (ЛЛФО), разработанная в РОНЦ им. Н.Н. Блохина, проходит доклинические исследования субхронической токсичности на лабораторных крысах и собаках.

Цель исследования – патоморфологическая оценка проявлений токсического действия ЛЛФО во внутренних органах крыс и собак в ранние и отдаленные сроки после 3-дневного внутривенного введения препарата.

Материалы и методы. Работа проведена на 40 неинбредных крысах-самцах и 6 собаках породы английский бигл (4 самки, 2 самца). ЛЛФО вводили внутривенно ежедневно трехкратно крысам в суммарных дозах 300, 200 и 100 мг/кг, собакам в суммарных дозах 30, 20 и 10 мг/кг. Крыс выводили из эксперимента на 3-и и 45-е сутки наблюдения, собак – на 3-и и 30-е сутки. На вскрытии проводили наружный осмотр и макроскопическое исследование внутренних органов. Павшие собаки (суммарные дозы 30 и 20 мг/кг) также подвергались патоморфологическому исследованию. Для гистологического исследования были взяты участки большинства внутренних органов, гистологические препараты приготовлены по общепринятой методике с окраской гематоксилином и эозином и были исследованы в световом микроскопе.

Результаты. У крыс на 3-и сутки опыта в суммарной дозе 300 мг/кг наблюдали выраженную гипоплазию лимфоцитов в тимусе, у большинства – дистрофические и деструктивные изменения в тонком кишечнике и почках, гипоплазию кроветворных клеток в костном мозге и лейкоцитов в селезенке у отдельных животных. ЛЛФО в суммарной дозе 200 мг/кг вызывала сходные изменения в тимусе большинства крыс, в почках и тонком кишечнике

у отдельных животных. К 45-м суткам опыта в суммарной дозе 300 мг/кг изменения сохранялись лишь в тимусе и почках у отдельных крыс, а в суммарной дозе 200 мг/кг морфологические изменения, отмеченные ранее, были полностью обратимы. ЛЛФО в суммарной дозе 100 мг/кг не вызвала изменений во внутренних органах крыс.

У собак на 3-и сутки наблюдения в суммарных дозах 30 и 20 мг/кг отмечены выраженные изменения в тонкой кишке, лимфатических узлах и селезенке, в почках и печени, щитовидной железе; менее выраженные – в семенниках, яичниках, желудке, толстой кишке, поджелудочной железе, надпочечниках, сердце и мочевом пузыре. У собак, павших на 7–8-е сутки, изменения во внутренних органах были более четкими. Животные пали на фоне отека головного мозга и легких. ЛЛФО в суммарной дозе 10 мг/кг на 3-и сутки вызвала несильно выраженные морфологические изменения в селезенке и семенниках, обратимые к 30-м суткам, а также изменения в печени, почках и тонкой кишке, не полностью обратимые к 30-м суткам.

Заключение. Показана дозовая зависимость морфологических изменений в органах крыс и собак после многократного применения ЛЛФО.

И.Б. Меркулова, Т.В. Абрамова, Н.Ю. Кульбачевская, О.И. Коняева, Н.П. Ермакова, В.А. Чалей, В.М. Бухман

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ КРЫС ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ВОСПРОИЗВЕДЕННОГО ВИНКРИСТИНА И ВИНКРИСТИНА ФИРМЫ ТЕВА

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. В РОНЦ им. Н.Н. Блохина воспроизведена лекарственная форма винкристина (ВК-В) и проведено ее изучение в сравнении с винкристином фирмы Тева, Израиль (ВК-Т).

Цель исследования – сравнительная патоморфологическая оценка внутренних органов крыс на 3-и и 30-е сутки после трехкратного ежедневного внутривенного применения ВК-В и ВК-Т.

Материалы и методы. В патоморфологических исследованиях использовано 30 неинбредных крыс-самцов, по 10 животных в группе. Препараты крысам вводили в разовых дозах 0,08 и 0,17 мг/кг (суммарные дозы – 0,25 и 0,5 мг/кг соответственно). По 5 крыс из каждой группы выводили из эксперимента на 3-и и 30-е сутки после прекращения введений препаратов. На аутопсии были взяты участки внутренних органов – головного мозга, сердца, легких, печени, желудка, тонкого и толстого кишечников, почек, мочевого пузыря, селезенки, тимуса, костного мозга, надпочечников, поджелудочной железы, щитовидной железы, семенников. Материал подвергали общепринятой гистологической обработке, включавшей фиксацию в 15 % формалине и окраску срезов гематоксилином и эозином. Микропрепараты анализировали в световом микроскопе при увеличении ×100, ×400, ×1000.

Результаты. Препараты в суммарных дозах 0,25 и 0,5 мг/кг на 3-и сутки после окончания введений во внутренних органах крыс вызывают сходные несильно выраженные морфологические изменения: гипоплазию в костном мозге и селезенке, деструктивные изменения в семенниках у отдельных крыс. После применения ВК-Т в изученных дозах, кроме того, в этот срок отмечены признаки гипоплазии в тимусе, лимфатических узлах и дистрофические изменения в почках и печени у единичных крыс. На 30-е сутки после окончания применения ВК-В, как и ВК-Т, в суммарных дозах 0,25 и 0,5 мг/кг у большинства крыс изменений во внутренних органах не обнаружено. У отдельных крыс выявлены некоторые различия в наборе органов с морфологическими изменениями. У единичных животных на 30-е сутки после окончания применения сравниваемых препаратов независимо от дозы имели место остаточные признаки морфологических изменений в некоторых органах: в костном мозге, семенниках, почках и печени – в группе ВК-В; в костном мозге, семенниках и почках – в группе ВК-Т. Установлено, что при введении препаратов в суммарных дозах 0,25 и 0,5 мг/кг во внутренних органах отмечена сходная обратимость патоморфологических изменений.

Заключение. Сравниваемые лекарственные формы ВК-В и ВК-Т вызывают практически сходные морфологические изменения в органах и тканях крыс после трехкратного ежедневного внутривенного введения.

А.В. Мешечкин[1], Л.И. Корытова[1], В.Г. Красникова[1], Т.С. Хлыстова[2], Н.Д. Олтаржевская[2], М.А. Коровина[2], Р.М. Жабина[1]

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГИДРОГЕЛЕВЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ АЛЬГИНАТА НАТРИЯ И БЕТУЛИНОСОДЕРЖАЩЕГО ЭКСТРАКТА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ЛУЧЕВЫХ РЕАКЦИЙ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

[1]ФГБУ РНЦРХТ Минздрава России, Санкт-Петербург
[2]ООО «Колетекс», Москва

Введение. Лучевая терапия (ЛТ) пациентов с метастазами колоректального рака (КРР) в печени связана с риском развития лучевых реакций органов пищеварения, таких как эзофагит, гастрит и дуоденит. Это может стать причиной преждевременного завершения ЛТ.

Цель исследования – улучшение результатов лечения больных с метастазами КРР в печени путем совершенствования методов профилактики лучевых реакций.

Материалы и методы. В исследование включены данные 10 пациентов (7 женщин и 3 мужчин), которым проводилась ЛТ по поводу метастазов КРР в печени. Средний возраст больных составил 63 года. Гистологическая структура опухоли – аденокарцинома разной степени дифференцировки. Всем пациентам проведена конформная ЛТ на область образований в печени в разовой очаговой дозе 3,0 Гр до суммарной очаговой дозы 51 Гр (17 сеансов). При химиотерапии на первом этапе проводилась диагностическая ангиография сосудов печени. В зависимости от сосудистой архитектоники в печени у пациентов использовали химиоэмболизацию или химиоинфузию. В качестве химиопрепаратов применяли оксалиплатин или иринотекан. С первого дня облучения все больные использовали гидрогелевый материал на основе альгината натрия и бетулиносодержащего экстракта березы, применяя его перорально, 3 раза в день, за 30 мин до приема пищи.

Результаты. ЛТ была проведена всем больным в полном объеме; пациенты перенесли лечение удовлетворительно. Анализ токсичности лечения показал, что такие осложнения, как тошнота, рвота, наблюдались после химиоэмболизации/инфузии у 4 пациентов и купировались применением антиэметиков в 1-й день лечения. Болевой синдром наблюдался у 2 пациентов после химиоэмболизации и на фоне симптоматической терапии снижался через 4–5 ч. Жалобы на боли в животе были зарегистрированы у 2 больных. Явления гастрита I–II стадии по данным фиброгастродуоденоскопии отмечены у 3 пациентов. Жалобы на незначительную болезненность при глотании твердой пищи отметили 2 пациентов к 12-му сеансу ЛТ.

Заключение. Комбинированное лечение больных с метастазами КРР в печени, включающее регионарную химиотерапию и конформную ЛТ, было проведено всем пациентам в полном объеме при приемлемом уровне токсичности. Использование гидрогелевого материала на основе альгината натрия и бетулиносодержащего экстракта березы позволяет предотвратить местные реакции органов пищеварения при проведении конформной ЛТ и завершить запланированное лечение всем больным.

А.В. Мешечкин[1], В.Г. Красникова[1], Л.И. Корытова[1], Т.С. Хлыстова[2], Н.Д. Олтаржевская[2], М.А. Коровина[2]

РЕЗУЛЬТАТЫ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ ВНУТРИКОЖНЫХ МЕТАСТАЗОВ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

[1]ФГБУ РНЦРХТ Минздрава России, Санкт-Петербург; [2]ООО «Колетекс», Москва

Введение. Частота метастазов в кожу при раке молочной железы (РМЖ) наблюдается у 20 % пациенток, что требует разработки надежных методов лечения этой категории больных.

Цель исследования – оценить переносимость и эффективность химиолучевого лечения (ХЛТ) пациенток с внутрикожными метастазами РМЖ.

Материалы и методы. Анализ проведен на основании результатов лечения 7 пациенток с РМЖ с метастатическим поражением кожи, получивших ХЛТ. Средний возраст – 53 года. Диаметр метастазов варьировал в пределах 0,5–6,0 см. Площадь поражения кожи составила 5–25 см^2. Лучевую терапию (ЛТ) проводили в разовой очаговой дозе 3 Гр в режиме электронов с энергией фотонов 6–9 МэВ до суммарной очаговой дозы 39 Гр (13 сеансов). Одномоментно в качестве радиомодификатора применялся препарат Халавен в дозе 1,4 мг/м^2 с 1-го дня ЛТ. Для профилактики лучевых реакций использовали гидрогелевый материал на основе альгината натрия и бетулиносодержащего экстракта березы. Гидрогелевый материал накладывался на поверхность кожи и опухолевой язвы в области облучения за 3 сут до начала ЛТ, далее – ежедневно с 1-го дня ЛТ утром и вечером.

Результаты. Реакций и осложнений, связанных с использованием препарата Халавен, не отмечалось. Аллергических реакций при аппликации геля на кожу в области облучения не наблюдалось. У 5 пациенток в процессе ХЛТ отмечали уменьшение размеров и высоты образований уже к 7-му сеансу ЛТ. Кровоточивость и боли в области метастазов снижались к 4-му дню лечения. Исчезновение очагов (до 1 см) наблюдалось у 4 пациенток по завершении лечения. Очищение и подсыхание раны с образованием корочки и свежих грануляций отмечены к окончанию курса ЛТ. Количество циклов химиотерапии Халавеном в среднем составило 5. У 4 пациенток были зарегистрированы полные ответы и у 2 – частичный регресс внутрикожных метастазов. Стабилизацию наблюдали у 1 пациентки. Таким образом, лечебный эффект был получен у всех больных. Полное исчезновение внутрикожных образований в зоне облучения наблюдалось через 1,5–2,0 мес после завершения ХЛТ. У 4 пациенток выявлена гиперпигментация кожи в проекции полей облучения.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности комбинированного лечения внутрикожных метастазов РМЖ. Возможности современной ХЛТ демонстрируют высокие результаты при наличии внутрикожных метастазов РМЖ и в 100 % случаев позволяют достичь лечебного эффекта. Использование гидрогелевого материала на основе альгината натрия и бетулиносодержащего экстракта березы позволяет предотвратить местные реакции и осложнения после ХЛТ, способствует более быстрому заживлению ран и в качестве материалов сопровождения улучшает качество жизни этой тяжелой категории больных.

А.В. Мешечкин[1], В.Г. Красникова[1], А.Г. Сандалевская[1], Л.И. Корытова[1], И.В. Гусев[2], Д.Р. Гафурова[2], Н.Д. Олтаржевская[2], М.А. Коровина[2]

ПРИМЕНЕНИЕ ГИДРОГЕЛЕВЫХ МАТЕРИАЛОВ «КОЛЕГЕЛЬ-ДИСК» ПРИ ЛЕЧЕНИИ РЕЦИДИВОВ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

[1]ФГБУ РНЦРХТ Минздрава России, Санкт-Петербург; [2]ООО «Колетекс», Москва

Введение. Поиск новых оптимальных сочетаний противоопухолевого воздействия на всех этапах развития рецидивов колоректального рака (КРР) диктуется поздней диагностикой рецидивов опухоли и низкой эффективностью повторного хирургического вмешательства.

Цель исследования – оценить вклад гидрогелевых материалов «Колегель-диск» на основе альгината натрия с частицами серебра при проведении комбинированного лечения рецидивов КРР.

Материалы и методы. В исследование включены 60 пациентов с диагнозом: местно-распространенный КРР, средний возраст – 67 лет. Гистологическая структура опухоли была представлена аденокарциномой у 57 (95 %) пациентов. Больные были разделены на 3 группы. В 1-й ($n = 20$) группе проведен курс лучевой терапии (ЛТ) в разовой очаговой дозе 3 Гр 5 раз в неделю до суммарной очаговой дозы 42 Гр, что соответствовало эквивалентной дозе 51 Гр. Во 2-й группе ($n = 20$) пациенты получали курс ЛТ, но с использованием динамического фракционирования. Разовая очаговая доза составила 4, 3 и 2 Гр до суммарной эквивалентной дозы 51 Гр. В 3-й группе ($n = 20$) ЛТ выполняли с использованием динамического фракционирования – 4, 3 и 2 Гр до суммарной эквивалентной дозы 56 Гр. В качестве радиомодификации использовали препараты кселода в дозе 2000 мг или фторафур в дозе 400 мг в течение первых

2 нед ЛТ. Больному в ходе ЛТ ректально вводили «Колегель-диск» с наночастицами серебра с экспозицией до 6–8 ч 2 раза в сутки (утром и за 1 ч до сна).

Результаты. В результате лечения в 1-й группе полный регресс (ПР) достигнут у 1 пациента, частичный регресс (ЧР) – у 15, стабилизация (Ст) – у 3, прогрессирование (Пр) – у 1. Во 2-й группе ПР опухоли диагностирован у 3 пациентов, ЧР – у 17. В 3-й группе ПР опухоли диагностирован у 7 пациентов, ЧР – у 13. Кровомазание проходило к 4–6-му дню использования дисков с наночастицами серебра. Боли в области рецидива снижались или исчезали к 6–9-му дню лечения. Среди лучевых реакций в 1-й группе тошнота I степени отмечена у 3 пациентов, лучевой ректит I–II степени – у 15, лучевой эпителиит I–II степени – у 4 пациентов; во 2-й группе тошнота I степени – у 7, лучевой ректит I–II степени – у 7, лучевой эпителиит I–II степени – у 6 и у 6 больных лучевых реакций не отмечено; в 3-й группе тошнота I степени наблюдалась у 7 пациентов, лучевой ректит I–II степени – у 9, лучевой эпителиит I–II степени – у 8 и у 3 пациентов лучевых реакций не отмечено.

Заключение. ЛТ в режиме динамического фракционирования стабилизирует патологический процесс и приводит к регрессу опухоли. Использование «Колегель-диска» на основе альгината натрия с частицами серебра снижает общую токсичность лечения и позволяет завершить лечение в запланированный срок.

К.А. Миронова, Б.Г. Борзенко, Р.В. Ищенко

НАРУШЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА В ЛИМФОЦИТАХ ПРИ РАЗЛИЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ ОПУХОЛЕВОГО ПРОЦЕССА

ДонНМУ им. М. Горького, Донецк, Украина

Введение. Аденозиндезаминаза (АДА) и лактатдегидрогеназа (ЛДГ) – ферменты энергообмена клеток, влияющие на их функциональное состояние. Резкое снижение активности АДА может приводить к нарушению функции Т- и В-клеток. Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г-6-ФДГ) принадлежит к системе антиоксидантной защиты, ключевой фермент цикла которого поставляет $НАДФН_2$ и фосфопентозы, необходимые для пластических и репаративных процессов в клетках.

Цель исследования – провести сравнительное изучение активности ЛДГ, АДА и Г-6-ФДГ в лимфоцитах крови больных раком желудочно-кишечного тракта и раком легкого (РЛ).

Материалы и методы. Спектрофотометрически исследована активность ЛДГ, АДА и Г-6-ФДГ в лимфоцитах у 84 пациентов с раком желудка (РЖ, $n = 23$), кишечника (РК, $n = 27$) и РЛ ($n = 34$), стадии Т3–4N0–XM0–1, в возрасте от 50 до 70 лет.

Результаты. Установлено однонаправленное изменение активности исследуемых ферментов в лимфоцитах больных с различной локализацией опухоли. Активность ЛДГ достоверно увеличена у всех больных по сравнению с контролем и составила $3,8 \pm 0,1$ нмоль/мин $\times 10^6$ при РЖ; $3,3 \pm 0,2$ нмоль/мин $\times 10^6$ при РК; $3,6 \pm 0,2$ при РЛ ($2,5 \pm 0,1$ нмоль/мин $\times 10^6$, $p < 0,001$). Активность АДА достоверно снижена: $18,5 \pm 1,6$ при РЖ; $8,9 \pm 1,5$ при РК; $23,5 \pm 3,9$ при РЛ ($52,1 \pm 6,7$ нмоль/мин $\times 10^6$; $p < 0,001$). Активность Г-6-ФДГ достоверно увеличена: $3,3 \pm 0,6$ при РЖ; $2,0 \pm 0,4$ при РК; $3,1 \pm 0,8$ при РЛ ($1,4 \pm 0,3$ нмоль/мин $\times 10^6$; $p < 0,001$). Параллельно исследована активность этих ферментов в лимфоцитах крови, отходящей непосредственно от опухоли. Полученные величины активности достоверно выше таковых в венозной крови. Найдена линейная корреляционная связь между активностью АДА и Г-6-ФДГ ($r = 0,533$; $p = 0,019$) и АДА и ЛДГ ($r = 0,711$; $p < 0,001$) в лимфоцитах крови, отходящей непосредственно от опухоли при РК.

Заключение. Таким образом, ферментативный статус клеток иммунной системы здоровых людей значительно отличается от статуса онкологических больных. Повышение активности ЛДГ лимфоцитов крови больных РЖ, РК и РЛ отражает интенсификацию процессов анаэробного окисления глюкозы в лимфоцитах. Снижение активности АДА приводит к накоплению аденозина и способствует его проапоптозному эффекту и нарушению иммунного ответа. Возрастание активности Г-6-ФДГ у больных – повышение активности реакций антиоксидантной системы защиты – по-видимому, указывает на функциональное напряжение адаптивных и защитных систем в лимфоцитах в условиях иммунодефицита.

В.О. Мирончик, Н.К. Юркштович, В.А. Алиновская, Т.Л. Юркштович

ПОЛУЧЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ФОСФАТОВ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ В КАЧЕСТВЕ НОСИТЕЛЕЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ВЕЩЕСТВ

НИИ ФХП БГУ, Минск, Республика Беларусь

Введение. Интенсивное развитие химии биополимеров обусловлено непрерывно растущим уровнем медицинских технологий и возникающей в связи с этим необходимостью создания изделий и средств на основе синтетических и природных полимеров для восстановления и обеспечения нормальной жизнедеятельности организма. Одним из основных требований, предъявляемых к биополимерам, является биосовместимость – способность полимера встраиваться в организм, не вызывая побочных клинических проявлений. В настоящее время предпочтение отдается биоактивным материалам, которые вступают в специфические взаимодействия с организмом и стимулируют конкретные процессы. Наибольший интерес для создания таких биополимеров представляют полисахариды и прежде всего целлюлоза, макромолекулы которой состоят из ангидроглюкопиранозных звеньев, соединенных β-гликозидной связью, и не содержат структурных единиц, которые могли бы оказывать токсическое воздействие на организм.

Цель исследования – определение оптимальных условий получения высокозамещенных фосфатов целлюлозы путем этерификации фосфорилирующей смесью «трибутилфосфат – ортофосфорная кислота – оксид фосфора (V)», изучение физико-химических и медико-биологических свойств полученных образцов и определение возможности использования их в качестве биодеструктируемого носителя противоопухолевых веществ.

Материалы и методы. В качестве исходного целлюлозного материала использовали трикотажное полотно. Реакцию этерификации целлюлозы осуществляли свежеприго-

товленной фосфорилирующей смесью при атмосферном давлении, температуре 20–60 °С, в течение 1–14 сут. Структуру, состав и размеры полученных образцов исследовали методами потенциометрического титрования, инфракрасной спектроскопии и ^{31}Р-спектроскопии ядерного магнитного резонанса, элементного анализа, рентгенофазового анализа, сканирующей электронной микроскопии и атомно-силовой микроскопии.

Результаты. При фосфорилирования в вышеописанных системах были получены фосфаты целлюлозы с содержанием фосфорнокислых групп в интервале 0,2–4,9 ммоль/г, степенью набухания 2,4–119 г/г, относящиеся к классу малотоксичных веществ, способные к гелеобразованию. Результаты исследований показали, что содержание фосфора и степень набухания в значительной степени зависят от продолжительности реакции и температуры процесса. При этом следует отметить, что увеличение температуры и времени реакции способствует накоплению фосфора, в то время как степень набухания проходит через максимум. Так, максимум набухания (112 г/г) фосфатов целлюлозы, полученных при 30 °С, достигается при фосфорилировании в течение 6 сут, а при 40 °С (119 г/г) – за 4 сут.

Заключение. На основании проведенных исследований предложен способ получения биодеструктируемых полимеров на основе высокозамещенных фосфатов целлюлозы, которые могут быть использованы в качестве носителей противоопухолевых веществ в силу их физико-химических свойств.

С.М. Мирошниченко, А.Н. Дударев, Т.А. Ткаченко, А.Ю. Городецкая, С.И. Давыденко, И.Ф. Усынин

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСА СТАУРОСПОРИНА С АПОЛИПОПРОТЕИНОМ А-1 НА КЛЕТОЧНУЮ ПРОЛИФЕРАЦИЮ

ФГБНУ «НИИ биохимии», Новосибирск

Введение. Стауроспорин (СТ) является противоопухолевым препаратом, способным вызывать апоптоз опухолевых клеток с фенотипом лекарственной устойчивости. Однако его использование затруднено в связи с цитотоксичностью по отношению к здоровым клеткам и плохой фармакокинетикой. Создание липосом с более низкими концентрациями СТ позволило снизить его токсичность. Аполипопротеин А-1 (АпоА-1), основной белок липопротеинов высокой плотности (природные переносчики), имеет амфипатические α-спирали, способные связывать плохо растворимые в воде молекулы. Показана его роль в транспорте холестерина, гормонов, жирорастворимых витаминов, ксенобиотиков.

Цель исследования – изучить влияние комплекса СТ с АпоА-1 на удвоение ДНК высокопролиферирующих клеток.

Материалы и методы. Липопротеины выделяли из плазмы крови человека методом изоплотностного ультрацентрифугирования в растворе KBr. АпоА-1 экстрагировали смесью бутанола с диизопропиловым эфиром с последующим высаливанием сульфатом аммония. Чистоту АпоА-1 оценивали с помощью электрофореза в полиакриламидном геле. Пролиферацию клеток оценивали по включению [^{3}H] -тимидина («Изотоп», Россия) в ДНК. Для этого за 2 ч до окончания эксперимента в культуральную среду вносили 2,0 мкКю/мл. Радиоактивность проб измеряли на жидкостном сцинтилляционном счетчике Mark-III (США). Скорость биосинтеза ДНК рассчитывали в импульсах в 1 мин на 10^6 клеток. Клетки линии THP-1 и мышиной меланомы B16-F10 культивировали в среде RPMI-1640 («ПанЭко», Россия) в присутствии СТ или комплекса СТ с АпоА-1 в течение 4 ч, концентрация СТ (Sigma) изменялась от 0,5 до 0,005 мкМ.

Результаты. Анализ тушения флуоресценции триптофана в АпоА-1 под влиянием СТ указывает на связывание данного индуктора апоптоза с белком. Полученный комплекс был стабилен в течение исследуемого периода (1 мес) и сохранял способность ингибировать включение [^{3}H] -тимидина в ДНК клеток линии THP-1 при меньшей концентрации антибиотика в комплексе с АпоА-1. Комплекс усиливал СТ-индуцированный апоптоз клеток линии THP-1. Для исследования включения [^{3}H] -тимидина в ДНК (S-фаза) клеток меланомы B16-F10 использовали СТ в концентрации от не влияющей на данный показатель (0,05 мкМ) до ингибирующей на 70 % (0,5 мкМ). В комплексе с АпоА-1 в первом случае ингибирование составило 41 % от контрольного уровня. Повышение концентрации СТ до 0,1 мкМ в среде культивирования снижало включение [^{3}H]-тимидина на 38 %, комплекс усиливал ингибирующий эффект до 56 %. В дальнейшем СТ в комплексе с АпоА-1 снижал включение [^{3}H]-тимидина в ДНК клеток в большей степени, чем СТ сам по себе.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования АпоА-1 для доставки СТ в высокопролиферирующие клетки.

В.А. Мисюрин[1], А.В. Мисюрин[1], Н.А. Лыжко[1], Т.В. Ахлынина[1], Ю.П. Финашутина[1], Л.А. Кесаева[1], А.В. Пономарёв[1], А.Е. Мисюрина[2], А.А. Крутов[2], Е.Н. Пушкова[1], О.С. Бурова[1], А.С. Уварова[1], М.А. Барышникова[1]

БЕЛОК PRAME СПОСОБЕН ВЛИЯТЬ НА ЭКСПРЕССИЮ СОБСТВЕННОГО ГЕНА

[1]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;
[2]ФГБУ ГНЦ Минздрава России, Москва

Введение. Экспрессия гена *PRAME* при онкологических заболеваниях наблюдается очень часто. Активность белка PRAME оказывает негативное влияние на прогноз. Известно, что PRAME способен связываться с бактериальными липополисахаридами и пептидогликанами (PAMPs). Данный белок состоит из лейцин-богатых повторов и имеет структуру, сходную с TLR2 (толл-подобный рецептор 2) и белком RI (ингибитор рибонуклеаз). Известно, что TLR2 через NF-κB активирует экспрессию гена *TLR2*. Согласно современным представлениям, экспрессия гена *PRAME* запускается при связывании неизвестного поверхностного рецептора с PAMPs. Мы располагаем данными, доказывающими наличие белка PRAME на поверхности клетки. Мы предполагаем, что мембраносвязанный белок PRAME связывается с PAMPs и передает сигнал внутрь клетки, что приводит к активации экспрессии многих генов, в том числе и гена *PRAME*. Кроме того, PRAME, подобно белку RI, может обладать способностью защищать РНК от тепловой деградации.

Цель исследования – доказать способность белка PRAME регулировать экспрессию гена *PRAME*.

Материалы и методы. Выравнивание последовательностей аминокислотных остатков проводилось в программе Vector NTI 10.0. Инкубировали 1 мкг тотальной РНК здорового донора в присутствии 0,1 мкг PRAME и 0,1 мкг RI в течение 12 ч при 37 °С, после оценивали целостность при проведении электрофореза. Клеточные линии THP-1 и NOMO-1 инкубировали с анти-PRAME моноклональными антителами (АТ) и PAMPs, использованными в качестве лигандов, в течение 3 сут. Количество белка PRAME внутри клеток, обработанных сапонином, и на внешней мембране клеток, не обработанных сапонином, определяли методом проточной цитофлуориметрии на цитометре FACSCanto II.

Результаты. PRAME и TLR2 имеют 24,6 % аналогичных аминокислотных остатков, а PRAME и RI – 25,8 %. Произошла полная деградация мРНК в отсутствие PRAME и RI, в то время как с этими белками мРНК не разрушилась. В линии THP-1 через 1 и 3 дня инкубирования с АТ уровень экспрессии *PRAME* составил 150 и 50 %; с PAMPs – 81 и 57 % соответственно. Через 3 дня инкубирования с АТ и PAMPs количество клеток с белком PRAME на мембране составило 50 и 170 %, а с белком PRAME в цитоплазме – 1085 и 732 % соответственно. В линии NOMO-1 уровень экспрессии мРНК гена *PRAME* после 1 и 4 ч, 1, 2 и 3 дней инкубирования с АТ составил 90, 147, 7, 119 и 95 %; с PAMPs – соответственно 104, 239, 16, 125 и 113 %. Количество клеток с белком PRAME в цитоплазме через 1 и 4 ч, 1, 2 и 3 дня инкубирования с АТ составило 187, 58, 26, 32 и 88 %; с белком PRAME на мембране – 76, 66, 110, 1067 и 222 % соответственно; после инкубирования с PAMPs количество клеток с PRAME в цитоплазме составило 127, 185, 102, 40 и 240 %; с PRAME на мембране – 97, 87, 173, 617 и 166 % соответственно.

Заключение. PRAME, так же как и RI, способен защищать РНК от деградации. Более того, PRAME проявил способность модулировать экспрессию собственного гена и белка, как это характерно для TLR2.

Н.А. Михеева[1], М.А. Семенова[1], Г.С. Терентюк[1, 2], В.А. Михеев[3], Е.П. Дрождина[1], Н.А. Курносова[1]

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СИНХРОНИЗИРОВАННЫХ РАКОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ВВЕДЕНИИ ЗОЛОТЫХ НАНОЧАСТИЦ *IN VITRO*

[1]ФГБОУ ВПО УлГУ, Ульяновск;
[2]ФГБОУ ВПО «СГУ им. Н.Г. Чернышевского», Саратов;
[3]ФГБОУ ВПО «УлГПУ им. И.Н. Ульянова», Ульяновск

Введение. Наномедицина и нанофармация разрабатывают механизмы доставки лекарственных веществ, новые методы и средства лечения, методы *in vivo* и *in vitro* диагностики. Ведущей областью применения этих разработок является онкология. Особое место среди наноразмерных материалов занимают золотые наночастицы (ЗНЧ). Оценка клеточных эффектов является особенно важной вследствие наноразмерности действующих агентов, которые непосредственно воздействуют на клеточные структуры. В то же время показатели функционального состояния митохондрий, отражающие адекватность энергопродукции для поддержания нормального метаболизма клеток, и интенсивность генерации активных форм кислорода (АФК) как показатель выраженности патологических процессов в клетке остаются неизученными.

Цель исследования – изучить влияние ЗНЧ на некоторые метаболические изменения синхронизированных по периодам клеточного цикла клеток *in vitro*.

Материалы и методы. Использована клеточная линия карциномы толстого кишечника HCT-116. Синхронизацию клеток проводили с помощью двойного тимидинового блока. В культуру клеток вносили 3,125 мкл 10 нм ЗНЧ (концентрация 0,5 г/л) с добавлением 0,5 мл среды. Митохондриальный потенциал клеток HCT-116 определяли с использованием флуоресцентного красителя TMRE. Концентрацию АФК определяли с использованием флуоресцентного красителя DCFH-DA. Флуоресценцию изучали в клетках контрольной группы и после 30- и 60-минутной инкубации с ЗНЧ.

Результаты. Инкубация клеток HCT-116 с ЗНЧ длительностью 30 и 60 мин не сопровождается значительными метаболическими изменениями митохондрий, о чем свидетельствует отсутствие достоверных различий в показателях флуоресценции зонда TMRE в периоды M, G1 и S. Период G2 через 30 мин инкубации с ЗНЧ характеризуется достоверным увеличением митохондриального потенциала, который затем (через 60 мин) уменьшается. Клеточный цикл HCT-116 при 30-минутном нахождении ЗНЧ в культуре характеризуется достоверным снижением флуоресценции зонда DCFH-DA. Период G2 клеток с ЗНЧ характеризуется меньшим значением флуоресценции по сравнению с клетками контрольной группы. Часовая культивация раковых клеток HCT-116 с ЗНЧ приводит к 3-кратному снижению продукции АФК в этих клетках в периоды G1, S и G2, M-период клеток через 30 и 60 мин инкубации с ЗНЧ отличается более высокой концентрацией АФК по сравнению с клетками контрольной группы.

Заключение. ЗНЧ в культуре раковых клеток в течение 1 ч не обусловливает развитие оксидативного стресса клеток и не приводит к функциональным нарушениям митохондрий, рост концентрации АФК в M-период в клетках с ЗНЧ будет индуцировать апоптоз раковых клеток, препятствуя их делению.

Д.В. Мищенко[1], М.Е. Неганова[2], Е.Н. Климанова[1], Т.Н. Сашенкова[1], У.Ю. Аллаярова[1], П.А. Тараканов[2], И.В. Выстороп[1]

ХЕМОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ СПИРОЦИКЛИЧЕСКИХ ГИДРОКСАМОВЫХ КИСЛОТ ПРИ КОМБИНИРОВАННОЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ ЛИМФОЛЕЙКОЗА Р388

[1]ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область;
[2]ФГБУН ИФАВ РАН, Черноголовка, Московская область

Введение. Одним из способов повышения эффективности и снижения токсичности известных цитостатиков может стать использование циклических гидроксамовых кислот (ЦГК) в комбинированной химиотерапии. В данном случае возможно использование известных, но весьма токсичных цитостатиков (цисплатин, циклофосфан) в ми-

нимальной субтерапевтической дозе, а введением в комбинацию хемосенсибилизатора можно добиться повышения ее эффективности в предотвращении развития опухоли.

Цель исследования – изучение противоопухолевой и хемосенсибилизирующей активности полученных рацемических ЦГК на экспериментальных лекарственно-чувствительных опухолях мышей.

Материалы и методы. Противоопухолевую активность изучали на лимфолейкозе Р388 мышей линии BDF1. Критерием эффективности лечения служило увеличение средней продолжительности жизни.

Результаты. Изучены 2 ряда ЦГК на основе аминокислот Gly, Ala, Val, Leu, содержащих тетраметилзамещенный или N-метилзамещенный спиропиперидиновый фрагмент. Показано, что в каждом ряду ЦГК, содержащих однотипный спиропиперидиновый фрагмент, наибольшую хемосенсибилизирующую активность при терапии лейкемии Р388 проявляют кислоты валинового ряда. Это позволяет сделать вывод о том, что наличие объемной изопропильной группы в имидазолидиновом цикле соединений ряда 1-гидрокси-1,4,8-триазаспиро[4.5]декан-2-она способствует значительному повышению их адъювантной способности на экспериментальной модели Р388. ЦГК, полученные на основе 1-метилпиперидона-4, обладают меньшей острой токсичностью, чем кислоты, полученные на основе триацетонамина, и являются более эффективными хемосенсибилизаторами. Установлено, что изученные ЦГК не обладают прямым антиоксидантным действием в реакции с тиобарбитуровой кислотой, но, являясь хелаторами ионов железа, могут проявлять опосредованное влияние при окислительном стрессе и модулировать действие различных металлопротеаз, участвующих в канцерогенезе. Методом квантово-химических расчетов провели теоретический анализ влияния структуры исследуемых ЦГК на их хелатирующую способность, полученные данные были подтверждены в экспериментах *in vivo*.

Заключение. Использование ЦГК в комбинированной химиотерапии может стать одним из способов повышения эффективности и снижения токсичности известных цитостатиков.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 14-03-00687А).

Л.Ф. Морозова, Н.М. Сураева, О.С. Бурова, М.А. Барышникова

ПОЛУЧЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ ХАРАКТЕРИСТИК КЛЕТОК СУБКЛОНА МЕЛАНОМНОЙ ЛИНИИ ЧЕЛОВЕКА MEL IBR ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ В РОСТОВОЙ СРЕДЕ С НИЗКОЙ КОНЦЕНТРАЦИЕЙ ЭМБРИОНАЛЬНОЙ ТЕЛЯЧЬЕЙ СЫВОРОТКИ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Злокачественная опухоль представляет собой гетерогенную популяцию клеток на различных стадиях дифференцировки. Многообразие нарушений, происходящих в клетке в процессе опухолевой прогрессии, требует создания адекватной модели для исследования стадий онкогенеза. При культивировании клеток меланомной линии человека Mel Ibr в ростовой среде со сниженным содержанием эмбриональной телячьей сыворотки до 5 % нами были обнаружены 2 морфологически различные субпопуляции клеток.

Цель исследования – получение одного из субклонов клеток данной линии и оценка его морфологических, иммунологических и цитогенетических характеристик в целях создания новой клеточной модели для изучения опухолевой прогрессии.

Материалы и методы. Клетки меланомной линии Mel Ibr адаптировали к росту в питательной среде RPMI-1640 с добавлением 5 % эмбриональной телячьей сыворотки в течение 3–5 пассажей. Затем клетки рассеивали с низкой плотностью в чашки Петри для получения колоний. Колонии из веретеновидных клеток извлекали и культивировали на протяжении длительного времени (до 60 пассажей) в такой же ростовой среде. Морфологические, иммунологические и цитогенетические исследования проводили на различных пассажах.

Результаты. Клетки субклона отличались морфологией от родительской популяции: имели значительно меньший размер, веретеновидную форму с длинными отростками, большим ядром, занимающим практически всю цитоплазму, и характеризовались интенсивным ростом. Иммунологические отличия проявлялись в уменьшении процента HLA-DR и CD54-положительных клеток, увеличением CD63 и появлением CD133-положительных клеток.

Заключение. Клетки субклона могут рассматриваться как модель для изучения опухолевой прогрессии.

Н.Б. Морозова[1], Е.А. Плотникова[1], А.Д. Плютинская[1], М.А. Грин[2], А.Ф. Миронов[2], Р.И. Якубовская[1]

ФОТОИНДУЦИРОВАННАЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ НА ОСНОВЕ ХЛОРОФИЛЛА А В СИСТЕМАХ *IN VITRO* И *IN VIVO*

[1]МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ НМИРЦ Минздрава России, Москва;
[2]ФГБОУ ВО МИРЭА, Москва

Введение. Известно, что на поверхности опухолевых клеток присутствуют рецепторы, распознающие все типы углеводов. Среди них особое место занимают галектины, представляющие собой белки семейства лектинов, специфичные к β-галактозидам. Их специфичность обусловлена наличием белков консервативного углевод-узнающего домена. Поэтому β-галактозидные заместители способны улучшить направленную доставку фотосенсибилизаторов (ФС) путем связывания с галектинами на поверхности клетки.

Цель исследования – сравнительное изучение фотоиндуцированной активности триметилового эфира хлорина е6 и его производного с остатком галактозы в пирроле А в системах *in vitro* и *in vivo*, их биораспределения и накопления в опухолевой и окружающей тканях животных.

Материалы и методы. В качестве ФС использовали триметиловый эфир хлорина е6 (3MeChl) и конъюгат на его основе с остатком галактозы в пирроле А (3MeChl_gal). Изучение фотоиндуцированной активности проводили в системе *in vitro* относительно опухолевых клеток мышиной карциномы легкого Льюиса (Lewis lung carcinoma, LLC) в мультипараметрической системе. Биологически значимым эффектом считали ингибирование роста клеток в культуре

более чем на 50 %. В системе *in vivo* изучали распределение ФС в органах и тканях мышей с опухолью LLC. Фотодинамическую терапию (ФДТ) проводили на 7-й день роста опухоли LLC (светодиодный источник $\lambda_{max} = 662 \pm 14$ нм). Противоопухолевый эффект оценивали по торможению роста опухоли (ТРО), увеличению продолжительности жизни (УПЖ) и критерию излеченности (КИ).

Результаты. Показано, что 3MeChl_gal эффективно накапливается в клетках культуры LLC и обладает более высокой фотоиндуцированной активностью по сравнению с 3MeChl (концентрация полумаксимального ингибирования составляла 25 ± 2 и 171 ± 4 нМ соответственно). При оценке биораспределения ФС *in vivo* отмечено, что оба соединения интенсивно накапливались в опухолевой ткани. Нормированная флуоресценция в опухоли LLC достигала максимальных значений для 3MeChl_gal в течение 5–15 мин, а для 3MeChl – в течение 15–60 мин и составляла 34,1 ± 6,9 и 18,4 ± 0,7 усл. ед. соответственно. Отмечена высокая флуоресцентная контрастность относительно окружающей ткани (кожа и мышца): 7,8 ± 0,3 и 3,6 ± 0,2 усл. ед. и 8,5 ± 0,3 и 4,2 ± 0,2 усл. ед. соответственно. 3MeChl и 3MeChl_gal показали высокую противоопухолевую активность в системе *in vivo* (100 % ТРО, 100 % УПЖ, 100 % КИ) при оптимальных режимах проведения ФДТ.

Заключение. Получен высокий противоопухолевый эффект в системах *in vitro* и *in vivo* для обоих соединений. Однако введение в хлориновый макроцикл углеводного фрагмента приводило к стремительному накоплению и выведению ФС, что создавало сложности при проведении сеанса ФДТ, а также к повреждению окружающих тканей, что не позволяет отнести его к перспективным ФС для ФДТ и делает нецелесообразным проведение такой модификации красителя.

В.А. Мумятова, А.А. Балакина, В.Д. Сень, А.А. Терентьев

ВЛИЯНИЕ АМИНОНИТРОКСИЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ПЛАТИНЫ (IV) НА ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ

ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область

Введение. Известно, что действие многих противоопухолевых соединений сопровождается образованием и накоплением активных форм кислорода. Аминонитроксильные радикалы являются антиоксидантами и способны улучшать свойства различных противоопухолевых соединений. В связи с этим актуальным является изучение влияния аминонитроксильных радикалов и возможности их применения для смягчения побочных эффектов в составе противоопухолевых соединений.

Цель исследования – изучение функционирования антиоксидантной системы опухолевых клеток линии MCF-7 при действии аминонитроксильного комплекса платины (IV).

Материалы и методы. Работа проводилась на опухолевой линии MCF-7 (аденокарцинома молочной железы человека). Выделение суммарной РНК проводили с использованием реагента ExtractRNA («Евроген») согласно методике производителя. Синтез первичной цепи кДНК проводили с помощью MMLV PT kit («Евроген») согласно методике производителя. Уровень экспрессии генов *SOD2*, *GPX1*, *GSR*, *GSTT* и *TXN* определяли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с помощью qPCRmix-HS SYBR («Евроген») согласно методике производителя. Программа амплификации стандартная. Аминонитроксильный комплекс платины (IV) – ВС-131 (e-аммин-d- (4-амино-2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил) – a, f-бис (пентаноато) – b, c-дихлороплатина (IV)) наносили в концентрации полумаксимального ингибирования с экспозицией от 2 до 12 ч с шагом в 2 ч. Опыты проводили в 3-кратной повторности.

Результаты. В ходе работы было определено влияние аминонитроксильного комплекса платины (IV) на экспрессию гена маркера окислительного стресса *SOD2*. Установлено, что исследуемое соединение увеличивает экспрессию данного гена, что предполагает накопление перекиси водорода в опухолевых клетках и развитие окислительного стресса. Увеличение экспрессии генов *TXN* и *GSTT* обусловлено их важной ролью в клеточных редокс-зависимых процессах, защищающих от разрушительного действия активных форм кислорода. Следует отметить, что экспрессия генов *SOD2*, *TXN* и *GSTT* увеличивается синхронно к 12 ч. Глутатион играет важную роль в поддержании редокс-статуса клеток, в механизмах системы детоксикации, в регуляции клеточного цикла, экспрессии генов и развитии апоптоза, однако исследуемое соединение не вызывает изменений в системе глутатиона. Экспрессия гена *GPX1* при действии комплекса ВС-131 незначительно выражена к 12 ч, в то время как экспрессия гена *GSR* не изменяется вовсе.

Заключение. Установлено, что действие аминонитроксильного комплекса платины ВС-131 в опухолевой линии MCF-7 вызывает активацию транскрипции генов *SOD2*, *TXN* и *GSTT*.

Р.Д. Мустафаев, Г.В. Тихов

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПЕРИТОНИТА

ФГБУ ГНЦ ЛМ ФМБА России, Москва

Введение. Широкое развитие фотодинамической терапии (ФДТ) и успешное внедрение методики в клиническую практику лечения воспалительных процессов разной локализации, а также наличие выраженного антибактериального эффекта, маловероятность развития резистентности и возможность локального использования без губительного воздействия на нормальную микрофлору организма позволяют, с нашей точки зрения, осуществить попытку изучения возможности применения метода ФДТ для лечения распространенного перитонита в эксперименте.

Цель исследования – оценить эффективность применения ФДТ при лечении разлитого перитонита.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 68 крысах линии Вистар массой тела 200–250 г. Для создания модели острого распространенного калового перитонита применена модифицированная методика В.А. Лазаренко и соавт. с использованием профильтрованной 10 % каловой взвеси в дозе 0,5 мл на 100 г. После введения каловой взвеси в брюшную полость подопытным крысам на 3-и сутки у них развивалась клиническая картина острого перитони-

та, выражающаяся в вялости и малоподвижности животных, вздутии живота, отказе от пищи и отсутствии стула. Для оценки эффективности лечения острого разлитого перитонита животные были поделены на основную и контрольную группы (22 крысы), в которых санацию брюшины проводили наиболее распространенным в клинической практике способом – 0,02 % раствором хлоргексидина. Кроме того, в течение 3 сут в послеоперационном периоде проводили антибактериальную терапию гентамицином из расчета 2 мг/кг внутримышечно. Основная группа состояла из 43 крыс, у которых санацию брюшной полости выполняли методом ФДТ. Подопытным животным внутривенно вводили фотосенсибилизатор Фотодитазин в дозе 0,8 мг/кг. Через 2–2,5 ч после введения Фотодитазина, предположительно после максимального накопления фотосенсибилизатора в воспаленной брюшине, подопытным крысам проводили оперативное вмешательство. В качестве источника света для ФДТ использовали лазер «Аткус-2» с выходной мощностью от 1 до 2 Вт, в непрерывном режиме красного оптического диапазона (длина волны 661 нм).

Результаты. Летальность в основной группе составила 9,5 % (4 крысы, из которых 2 скончались в течение 24 ч и 2 – в последующие 48 ч вследствие продолжающегося перитонита). В контрольной группе летальность составила 27,3 % (6 крыс) в течение первых 24 ч при явлениях продолжающегося перитонита.

Заключение. Оценка летальности при экспериментальном перитоните свидетельствует о преимуществах санации брюшной полости методом ФДТ по сравнению с традиционными методами санации.

Р.Д. Мустафаев, Г.В. Тихов

ОЦЕНКА АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ЭФФЕКТА ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПЕРИТОНИТЕ

ФГБУ ГНЦ ЛМ ФМБА России, Москва

Введение. Появление новых штаммов микроорганизмов, резистентных к антибиотикам, заставляет исследователей постоянно искать, разрабатывать и внедрять в практику новые, в том числе и нефармакологические, способы воздействия на патогенную флору.

Цель исследования – изучить антибактериальные свойства фотодинамической терапии (ФДТ) при остром экспериментальном перитоните, вызванном внутрибрюшинным введением монокультуры кишечной палочки (штамм 25922).

Материалы и методы. Для оценки эффективности различных способов санации брюшной полости при перитоните существенное значение имеет определение числа колониеобразующих единиц микроорганизмов в послеоперационном периоде. Определение концентрации микробных тел кишечной палочки проводили в контрольной и основной группе, где санацию брюшной полости проводили методом ФДТ. Подопытным животным внутривенно вводили фотосенсибилизатор Фотодитазин в дозе 0,8 мг/кг. Через 2–2,5 ч после введения препарата, предположительно после максимального накопления фотосенсибилизатора в воспаленной брюшине, подопытным крысам проводили сеанс облучения. В качестве источника света при ФДТ использовали лазер «Аткус-2» с выходной мощностью от 1 до 2 Вт и длиной волны 661 нм. В контрольной группе санацию проводили наиболее распространенным в клинической практике способом – 0,02 % раствором хлоргексидина. Животных выводили из эксперимента передозировкой анестетика через 1, 3, 5 и 7 сут после оперативного вмешательства.

Результаты. До проведения санации содержание микробных тел кишечной палочки у животных с острым разлитым перитонитом составляло 10^7–10^8 в 1 мл экссудата. Через 1 сут после санации брюшины методом ФДТ у выведенных из эксперимента животных число микробных тел значительно снижалось и составляло 10^2 в 1 мл экссудата, а через 3 сут после операции микрофлоры в брюшной полости не выявляли. В контрольной группе концентрация микробных тел кишечной палочки в 1 мл экссудата составила через 1 сут после операции – 10^4, через 3 сут – 10^3, через 5 сут – 10^2. К 7-м суткам после операции брюшная полость становилась стерильной.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о высокой стерилизующей способности ФДТ при остром экспериментальном перитоните у крыс, вызванном монокультурой кишечной палочки. Простота способа, его доступность и надежность, исключение термического повреждения брюшины дают основание для дальнейшего изучения применения ФДТ для лечения острого перитонита.

Н.А. Наволокин, Д.А. Мудрак, Н.В. Полуконова, С.А. Тычина, Т.П. Байтман, Н.В. Корчаков, М.О. Воронков, А.Б. Бучарская, Г.Н. Маслякова

СРАВНЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ И АНТИКАХЕКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ФЛАВОНОИДСОДЕРЖАЩИХ ЭКСТРАКТОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА ЖИВОТНЫХ С ПЕРЕВИТОЙ САРКОМОЙ 45

ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов

Введение. Известно, что наиболее перспективной группой веществ растительного происхождения для создания препаратов являются флавоноиды. Ранее нами было установлено, что флавоноидсодержащие экстракты, наряду с противоопухолевой активностью, способны активировать антиоксидантные системы и снижать скорость перекисного окисления липидов.

Цель исследования – изучить противоопухолевую и антикахексическую активность флавоноидсодержащих экстрактов аврана лекарственного и бессмертника песчаного в эксперименте *in vivo* на белых крысах с перевитой саркомой 45.

Материалы и методы. Сырье собрано на территории Саратовской области, экстракты аврана и бессмертника получены авторским способом (патент № 2482863). Дизайн эксперимента: животные с перевитой саркомой 45 были разделены на 3 группы. Первая – группа сравнения с опухолью без воздействия. Вторая и третья группы – экспериментальные с многократным внутримышечным введением аврана (доза 110 мг/мл) и бессмертника (доза 1000 мг/мл) в течение 2 нед после достижения опухолями объема 1 $см^3$. Во время эксперимента производили измерение объема опухоли и массы животных. Крыс выводили из экспери-

мента путем декапитации, забирали опухоль гистологического исследования.

Результаты. При введении экстрактов аврана и бессмертника отмечали значительное замедление темпов роста опухоли, при гистологическом исследовании наблюдали некроз опухоли, замещение соединительной тканью, что подтверждалось окраской по Зербино (ОКГ). Но следует отметить, что замедление темпов роста опухоли было более выраженным при введении экстракта аврана, несмотря на меньшую дозировку по сравнению с экстрактом бессмертника. При анализе динамики массы тела (с вычетом массы опухоли) животные группы сравнения потеряли в весе от начала эксперимента. При введении экстракта аврана крысы не только сохранили исходную массу, а даже начали набирать ее. При введении экстракта бессмертника животные набрали более чем на 20 % от массы тела до эксперимента даже с вычетом массы опухоли на конец эксперимента.

Заключение. Исследованные флавоноидсодержащие экстракты обладают противоопухолевой и антикахексической активностью, при этом если экстракт аврана вызывает более выраженное замедление темпов роста опухоли, то экстракт бессмертника эффективнее препятствует развитию кахексии.

М.Е. Неганова[1], П.А. Тараканов[1], Е.Н. Тараканова[1], О.М. Редкозубова[1], Е.Ф. Шевцова[1], Е.В. Давыдов[2], Д.В. Мищенко[3]

ИССЛЕДОВАНИЕ ИФОТОТОКСИЧНОСТИ НОВЫХ ПЕРСПЕКТИВНЫХ МОЛЕКУЛ ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ – 5,7-БИС(СТИРИЛ)-1,4-ДИАЗЕПИНОПОРФИРАЗИНОВ

[1]ФГБУН ИФАВ РАН, Черноголовка, Московская область; [2]Ветеринарная клиника «Велес-Текстильщики», «Россолимо», Москва; [3]ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область

Введение. В настоящее время одним из активно развивающихся подходов к лечению онкологических заболеваний является фотодинамическая терапия (ФДТ). Основным преимуществом данного метода является снижение токсического эффекта на организм за счет локального воздействия. При этом успех ФДТ в значительной степени определяется выбором фотосенсибилизатора. Диазепинопорфиразины являются перспективными молекулами для ФДТ благодаря высокому коэффициенту молярного поглощения в ближнем инфракрасном диапазоне (700 нм и выше), возможности легкого введения в структуру таргетных группировок для адресной доставки и способности к эффективной генерации синглетного кислорода.

Цель исследования – оценка фототоксичности 5,7-бис-(стирил)-1,4-диазепинопорфиразинов *in vitro*.

Материалы и методы. Исследования выполнены на экспериментальной модели рака молочной железы человека (клеточная линия MCF-7). Облучение проводили с использованием фототерапевтического светодиодного аппарата «АФС» (длина волны 667 нм, доза облучения 7 Дж/см^2).

Результаты. Показана зависимость фототоксических свойств 5,7-бис(стирил)-1,4-диазепинопорфиразинов от способности к агрегации, квантового выхода синглетного кислорода и металла-комплексообразователя. Искаженная структура 1,4-диазепинового гетероцикла препятствует формированию фотофизически неактивных агрегатов при переходе из липофильных в гидрофильные среды, что позволяет эффективно использовать как липосомальные, так и мицеллярные формы. При переходе от Mg (II)- к Zn (II)-комплексу диазепинопорфиразина не проявился спин-орбитальный эффект тяжелого атома, приводящий к увеличению квантового выхода синглетного кислорода. Однако фототоксичность Zn (II)-комплекса оказалась значительно выше. Следует отметить, что все исследуемые соединения не проявили темновой токсичности в концентрациях до 1×10^{-5} М.

Заключение. Таким образом, изученные 5,7-бис-(стирил)-1,4-диазепинопорфиразины могут выступать в качестве основы для создания эффективных фотосенсибилизаторов для ФДТ.

Е.Р. Немцова, О.А. Безбородова, Н.Б. Морозова, Ю.Б. Венедиктова, Т.Н. Андреева, Е.И. Нестерова, Т.М. Андронова, Р.И. Якубовская

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ИММУНОМОДУЛЯТОРА N-АЦЕТИЛГЛЮКОЗАМИНИЛ-N-АЦЕТИЛМУРАМИЛ-L-АЛАНИЛ-D-ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ

ФГБУ НМИРЦ Минздрава России, Москва

Введение. Работа посвящена экспериментальному изучению возможностей повышения терапевтической эффективности консервативного лечения больных со злокачественными новообразованиями путем использования иммуномодулирующего препарата на основе N-ацетилглюкозаминил-N-ацетилмурамил-L-аланил-D-глутаминовой кислоты (ГМДП-А) (ЗАО «Пептек»).

Цель исследования – оценка фармакологической активности ГМДП-А (противоопухолевое и модифицирующее действие), вводимой самостоятельно и в сочетании с противоопухолевыми препаратами.

Материалы и методы. Модели солидных опухолей: Р388, В16, S37, С26, АКАТОЛ, РШМ 5; модели асцитных вариантов опухолей S37 и Р388. Эффективность ГМДП-А оценивали в монотерапии и в сочетании с цисплатином (4 мг/кг – Р388, В16, S37, РШМ 5), фторурацилом (125 мг/кг – С26 и АКАТОЛ), гемзаром (120 мг/кг – Р388), и циклофосфаном (50 мг/кг – Р388). На моделях РШМ 5, АКАТОЛ и Р388 оценили влияние индивидуального и сочетанного (с цисплатином) лечения ГМДП-А при его введении в зону, близко расположенную к опухоли, и симметрично – на противоположной стороне тела мыши.

Результаты. Изучено влияние ГМДП-А в монорежиме и в сочетании с цитостатиками на развитие различных по гистогенезу опухолей у иммунокомпетентных мышей. Отмечена выраженная связь между гистологической формой опухоли и эффективностью воздействия ГМДП-А: при начале лечения через 24 ч после инокуляции опухоли наблюдалось слабо выраженное торможение роста опухолей (Р388 > В16 > РШМ 5) с тенденцией к увеличению эффективности ГМДП-А при пролонгации курса введения по торможению роста опухоли (ТРО), которое достигало 50–70 %. Не отмечено ТРО S37, С26 и АКАТОЛ ни при ка-

ких режимах и путях введения. ГМДП-А оказывала модифицирующее (усиливающее) действие в отношении терапевтической эффективности цисплатина, выраженность которого зависела от гистологической формы опухоли (P388 > B16 > S37 > РШМ 5), варианта роста опухоли, пути введения (эффективна при подкожном введении и солидной опухоли, неэффективна при внутрибрюшинном введении и асцитной опухоли) и длительности курса (эффективен более длительный курс). ГМДП-А проявляла выраженный модифицирующий эффект по ТРО и уровню продолжительности жизни на модели P388 в отношении гемзара и циклофосфана. Выявлено дистантное действие ГМДП-А, которое косвенно подтверждает иммунный механизм воздействия.

Заключение. ГМДП-А не обладает противоопухолевой активностью по критериям, принятым для оценки эффективности цитостатических препаратов. ГМДП-А проявляет модифицирующие свойства в отношении ряда цитостатических препаратов: цисплатина, гемзара и циклофосфана, что подтверждает его потенциал как модификатора биологических реакций. Препарат ГМДП-А может быть рекомендован для клинических испытаний при химиотерапии пациентов с онкогематологическими заболеваниями.

М.В. Нехорошев, В.И. Рябушко, С.Н. Железнова, Р.Г. Геворгиз

КУЛЬТИВИРУЕМЫЕ ВОДОРОСЛИ – КОММЕРЧЕСКИЙ ИСТОЧНИК АНТИОКСИДАНТОВ

ФГБУН «ИМБИ им. А.О. Ковалевского», Севастополь

Введение. Микроводоросли являются перспективным источником биологически активных веществ, таких как полиненасыщенные жирные кислоты, полисахариды, витамины, каротиноиды и др.

Материалы и методы. Среди многих видов водорослей особый интерес представляет *C. closterium* (Ehrenberg) Reimann & Lewin и *Spirulina (Arthrospira) platensis* (Nordst.) Geitl, поскольку обладают рядом уникальных свойств.

Результаты. Содержание фукоксантина (ФК) у *C. closterium* достигает 78 % от общего количества каротиноидов, что в пересчете на сухую массу составляет 1,7 %; содержание жирных кислот достигает 40 %, из них 22 % от общего содержания жирных кислот – полиненасыщенные жирные кислоты. Наибольшего внимания заслуживает ФК, который приводит к снижению уровня глюкозы в крови за счет участия в формировании докозагексаеновой кислоты. Большое количество публикаций посвящено исследованию ФК в области онкологии. Он значительно подавляет рост клеток лейкоза человека, рака предстательной железы и молочной железы. ФК получили в кристаллической форме из диатомовой водоросли *C. closterium* и затем охарактеризовали методами масс- и ядерной магнитно-резонансной спектроскопии. Соотношение транс- и цисизомеров ФК, полученное после перекристаллизации из диэтилового эфира, составляло 95:4. В то же время после перекристаллизации ФК из хлористого метилена соотношение изомеров составляет 99:0,5.

Из филаментной планктонной цианобактерии *Spirulina platensis* выделен комплекс, состоящий из 2 каротиноидов: муксола и осцилолла. Содержание комплекса в спирулине достигает 0,76 % на сухую массу. Соотношение муксола и осцилолла при этом составляет 62,7 %:27,2 %. Данные каротиноиды охарактеризованы UV–VIS FABMS HPLS и NMR. Комплекс получен без использования хроматографических методов и, по данным японских исследований, обладает высокой противоопухолевой активностью.

Заключение. Получили кристаллический ФК из диатомовой водоросли *C. closterium* и комплекс из *Spirulina platensis*, состоящий из 2 каротиноидов (муксола и осцилолла) и белка.

И.А. Низова, А.Ю. Вигоров, Г.Л. Левит, В.П. Краснов

СИНТЕЗ КОНЪЮГАТОВ 2-АМИНОПУРИНА С RGD-ПЕПТИДОМ

ФГБУН «ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН», Екатеринбург

Введение. Пептиды, содержащие аминокислотную последовательность (*S*)-аргинил-глицил-(*S*)-аспарагиновая кислота (RGD-пептиды), проявляют специфическое взаимодействие с интегринами определенных классов – поверхностными рецепторами опухолевых клеток. Поэтому представляет интерес синтез соединений, содержащих фрагмент модифицированного азотистого основания и RGD-пептида в качестве молекулярного вектора как потенциальных противоопухолевых веществ.

Цель исследования – разработка метода синтеза *N*-(2-аминопурин-6-ил)глицил-(*S*)-аргинил-глицил-(*S*)-аспарагиновой кислоты.

Материалы и методы. Получены исходные соединения – диметиловый эфир (N^{ω}-2,2,4,6,7-пентаметилдигидробензофуран-5-сульфонил)-(*S*)-аргинил-глицил-(*S*)-аспарагиновой кислоты (N^{ω}-Pbf-Arg-Gly-Asp-$(OMe)_2$) и *N*-(2-ацетиламинопурин-6-ил) глицин. Строение и чистота целевых соединений подтверждены данными ^{1}H ядерной магнитно-резонансной спектроскопии (Bruker Avance 500), элементного анализа (Perkin Elmer PE 2400), HRMS (LCMS-2010 фирмы Shimadzu) и обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (Agilent 1100, колонка Phenomenex Luna C-18).

Результаты. Исследована реакция конденсации N^{ω}-Pbf-Arg-Gly-Asp-$(OMe)_2$ и *N*-(2-ацетамидопурин-6-ил) глицина в различных условиях. Установлено, что оптимальными условиями, позволяющими получать конъюгат *N*-(2-ацетамидопурин-6-ил)глицина с умеренными выходами, являются использование смеси растворителей диметилсульфоксида – диметилформамида в присутствии тетрафторобората *O*-(бензотриазол-1-ил)-*N,N,N'N'*-тетраметилурония (TBTU) в качестве конденсирующего агента и *N,N*-диизопропилэтиламина в качестве третичного основания. Удаление защитных групп в полученном конъюгате осуществляли путем последовательных превращений: щелочного гидролиза (1M NaOH комнатной температуры) для удаления сложноэфирных и ацетильной защитных групп и обработки водным раствором трифторуксусной кислоты для удаления Pbf-защитной группы. В результате целевое соединение получено в виде трифторацетата.

Заключение. Разработан метод синтеза *N*-(2-аминопурин-6-ил)глицил-(*S*)-аргинил-глицил-(*S*)-аспаргино-

вой кислоты, потенциального противоопухолевого соединения.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 14-13-01077).

Л.Л. Николаева[1], А.В Ланцова[1], Е.В. Санарова[1], И.Д. Гулякин[1], Н.А. Оборотова[1, 2], Е.В. Игнатьева[1], Н.А. Дмитричева[1], И.В. Ярцева[1], Н.Д. Бунятян[2], В.В. Мусияк[3], Г.Л. Левит[3], В.П. Краснов[3]

КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ОРМУСТИНА В ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ

[1]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва; [2]ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва; [3]ФГБУН «ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН», Екатеринбург

Введение. Тонкослойная хроматография (ТСХ) является одним из основных методов в таких фармацевтических исследованиях, как установление подлинности препаратов, определение количественного содержания действующего вещества и посторонних нелетучих примесей, контроль высвобождения и т. п. В РОНЦ им. Н.Н. Блохина была разработана лиофилизированная лекарственная форма препарата из класса нитрозомочевин – Ормустин. Для идентификации активного вещества в лекарственной форме возможно использование ТСХ-анализа.

Цель исследования – подбор системы растворителей для определения Ормустина в лиофилизированной лекарственной форме методом ТСХ.

Материалы и методы. Ормустин, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций 125 мг (РОНЦ им. Н.Н. Блохина), субстанция Ормустина (ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН), различные органические растворители: этанол, пропанол-2, бутанол, аммиак водный, ледяная уксусная кислота, этилацетат, этиловый эфир, хлороформ. Хроматографическое разделение компонентов проводили на пластинках “Sorbfil” 10 × 15 см (Россия). Лиофилизат Ормустина регидратировали водой для инъекций. Стандартный раствор Ормустина получали растворением субстанции Ормустина водой для инъекций. На линию старта наносили раствор препарата и стандарта. После достижения фронтом растворителей линии финиша пластинку вынимали из камеры, подсушивали на воздухе и проявляли раствором нингидрина.

Результаты. В ходе проведенного эксперимента изучены значения величины подвижной фазы в 12 различных системах растворителей. Наиболее четкая идентификация субстанции Ормустина получена в 3 системах: 1) н-бутанол–ледяная уксусная кислота–вода (12:3:5), 2) пропанол-2–аммиак водный (6:4), 3) этанол–аммиак водный (6:4).

Заключение. Проведен подбор систем растворителей для идентификации Ормустина в лекарственной форме. Полученные результаты указывают на возможность применения ТСХ-анализа для идентификации Ормустина в лиофилизате.

Работа выполнена в рамках Государственного контракта № 13411.1008799.13.163 «Доклинические исследования противоопухолевого лекарственного средства класса нитрозомочевин».

Л.Л. Николаева[1], И.Д. Гулякин[1], А. В Ланцова[1], Е.В. Санарова[1], Н.А. Оборотова[1, 2], Е.В. Игнатьева[1], Н.А. Дмитричева[1], И.В. Ярцева[1], Н.Д. Бунятян[2]

ОПРЕДЕЛЕНИЕ KOLLIDON 17 PF В ЛИОФИЛИЗИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ

[1]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва; [2]ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

Введение. Kollidon 17 PF относится к водорастворимым поливинилпирролидонам, по своим физиологическим свойствам он аналогичен альбумину крови и при введении в кровеносное русло оказывает благоприятное воздействие на системную гемодинимику и микроциркуляцию. Его используют при производстве таблеток, для повышения растворимости активных фармацевтических субстанций, а также при создании инъекционных лекарственных форм, для формирования структуры лиофилизата в процессе сублимационной сушки, и в других областях фармацевтической промышленности. Поскольку Kollidon 17 PF входит в состав множества современных лиофилизированных лекарственных форм, то разработка метода его идентификации является актуальной задачей. Метод тонкослойной хроматографии (ТСХ) достаточно прост в применении, обеспечивает быстрое разделение компонентов, поэтому его применяли для определения Kollidon 17 PF.

Материалы и методы. Kollidon 17 PF (BASF, Германия), ЛХС-1208, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций 9 мг (РОНЦ им. Н.Н. Блохина), Ормустин, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций 125 мг (РОНЦ им. Н.Н. Блохина), органические растворители: этанол, пропанол-2, бутанол, аммиак водный, ледяная уксусная кислота, этилацетат, этиловый эфир, хлороформ, н-гексан, бензол, ацетон, метанол. В качестве неподвижной фазы использовали пластинки “Sorbfil” 10 × 15 см (Россия). Хроматографирование проводили восходящим способом. Когда расстояние фронта растворителей достигало 12 см, пластинку вынимали из камеры и подсушивали на воздухе. Идентифицировали парами йода (желтое пятно).

Результаты. В ходе эксперимента использованы несколько различных систем растворителей. В 28 случаях Kollidon 17 PF проявлялся на линии старта. Только в 2 системах удалось оторвать исследуемый компонент от стартовой линии – пропанол-2: аммиак водный (6:4) и этанол: аммиак водный (6:4).

Заключение. Подобраны системы растворителей для идентификации Kollidon 17 PF в составе лекарственных форм.

Л.Н. Николаевич, О.И. Голубович, К.Н. Саунина

СИНЕРГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ АГОНИСТОВ ГЛУТАМАТА И ЦИТОСТАТИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Введение. В клинической практике для лечения злокачественных заболеваний применяют агонисты глутамата в комбинации с существующими химиотерапевтическими препаратами. Это позволяет достичь большего цитостатического эффекта по сравнению с применением только од-

ного препарата. В связи с этим возникает необходимость поиска фармакологических агентов, способных избирательно модулировать глутаматные рецепторы.

Цель исследования – изучить влияние монотерапии и сочетанного действия агонистов глутаматных рецепторов и ингибиторов пролиферации на опухолевые клетки в динамике.

Материалы и методы. Работа выполнена на клеточной линии глиомы крысы С6 (экпериментальная модель мультиморфной глиобластомы человека). Использовали методы культивирования клеток *in vitro*, цитологический, статистический. Пролиферацию опухолевых клеток глиомы крысы С6 оценивали по митотическому индексу (МИ, %), количеству генераций популяции клеток (Г), времени удвоения популяции (ВУП, ч), а также оценивали ингибирующую активность изучаемых веществ. Агонисты глутаматных рецепторов – α-глутаминовая кислота в дозах 10 и 1000 мкМ; ингибиторы пролиферации – темозоломид 10, 100, 1000 мкг/мл; цисплатин 0,4; 4; 40 мкг/мл.

Результаты. Митотическая активность опухолевых клеток *in vitro* в условиях острого и пролонгированного действия на них α-глутаминовой кислоты в дозах 10 и 1000 мкМ снижается по сравнению с контролем. В условиях кратковременного (6 ч) воздействия α-глутаминовой кислоты пролиферация клеток снижается на 60 и 54 % соответственно, а при более длительном воздействии (72 ч) на 74 и 81 % по сравнению с контролем. Ингибирующая активность темозоломида сильнее выражена при сочетанном воздействии с α-глутаминовой кислотой на клетки С6 и эффект сохраняется в течение 48 ч. В условиях раздельного действия темозоломид в дозе 1000 мкг/мл подавляет пролиферацию клеток на 82 %, а при воздействии на фоне α-глутаминовой кислоты пролиферативная активность восстанавливается до контрольного уровня. Ингибирующая активность цисплатина также возрастает на фоне изменения функционального состояния глутаматных рецепторов при действии α-глутаминовой кислоты в дозе 10 мкМ.

Заключение. Нарушения функционального состояния глутаматных рецепторов опухолевых клеток С6 α-глутаминовой кислотой усиливает действие цитостатических препаратов темозоломида и цисплатина на пролиферацию клеток и активирует их гибель.

Л.Н. Николаевич, К.Н. Саунина, О.И. Голубович, Е.Ф. Полукошко

КЛОН-ИНДУЦИРОВАННАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ГЛУТАМАТНОЙ «ЭКСАЙТОТОКСИЧНОСТИ» *IN VITRO*

ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Введение. Одним из подходов разработки способов регуляции пролиферации клеток являются изучение клональной гетерогенности популяции опухолевых клеток в условиях моделирования глутаматной «эксайтотоксичности» и использование в качестве лекарственных средств естественных возбуждающих медиаторов.

Цель исследования – изучить клон-индуцированную чувствительность опухолевых клеток при моделировании глутаматной «эксайтотоксичности» *in vitro*.

Материалы и методы. Методом клонирования *in vitro* опухолевых клеток С6 проведены исследования на модели глутаматной «эксайтотоксичности». Развитие процесса индуцировали добавлением глутамата натрия, L-глутаминовой кислоты и NMDA в «эксайтотоксических» дозах (2, 20, 200 мкМ; 20, 200 мМ; 100 мкМ соответственно) в монослойную культуру на стадии логарифмического роста. Спустя 24 ч (время удвоения популяции клеток С6) одна часть клеточной популяции была расклонирована на чашки Петри, а другая – субкультивирована во флаконах и в логарифмической фазе роста популяция клеток была расклонирована. Оценивали эффективность клонирования опухолевых клоногенных клеток.

Результаты. Установлено, что инкубирование опухолевых клеток с агонистами глутаматных рецепторов – глутаматом натрия и L-глутаминовой кислотой приводит к гибели клеток по отношению к контролю. Показано, что угнетение пролиферации клоногенных клеток С6 сохраняется после субкультивирования клеток, подвергшихся действию глутамата натрия в дозе 2 мкМ ($ЛД_{79}$), L-глутаминовой кислоты в дозе 200 мМ ($ЛД_{90}$). В условиях воздействия глутамата натрия и L-глутаминовой кислоты на клоногенные клетки в клонах наблюдается их резистентность. L-глутаминовая кислота в дозах ниже «эксайтотоксических» (10 мкМ) не влияет на пролиферацию клоногенных клеток. Также показано, что клоногенные клетки в клонах резистентны к воздействию агониста глутаматных рецепторов NMDA (N-метил-D-аспартат) в дозе 100 мкМ.

Заключение. Возможно, в механизме нарушения эффективности клонирования опухолевых клеток лежит активация реакции глутаматной «эксайтотоксичности».

Л.Н. Николаевич, К.Н. Саунина, О.И. Голубович, Т.А. Хрусталёва, Е.Ф. Полукошко, Е.С. Барашкова

ВЛИЯНИЕ АНТАГОНИСТОВ ГЛУТАМАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ КЛОНИРОВАНИЯ И МЕТАБОЛИЗМ ОПУХОЛЕВЫХ КЛОНОГЕННЫХ КЛЕТОК

ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Введение. Внутриопухолевая гетерогенность, свойственная большинству злокачественных новообразований человека, является основной преградой на пути высокоэффективной диагностики онкологических заболеваний, к успешному прогнозу и лечению.

Цель исследования – изучить влияние фенитоина и ламотригина на эффективность клонирования и метаболизм опухолевых клоногенных клеток.

Материалы и методы. Работа выполнена на перевиваемой линии клеток глиомы крысы С6. В исследовании использовали цитологический метод (анализ эффективности клонирования клеток С6 в клонах), методы культивирования и клонирования клеток *in vitro*, биохимический (определение активности щелочной фосфатазы (ЩФ) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ)), статистический. В качестве антагонистов глутаматных рецепторов применяли фенитоин (5,5-дифенил-гидантоин, Sigma, США) в дозах 1, 10, 100, 1000 мкг/мл и ламотригин (6-(2,3-ди-

хлорфенил)-1,2 триазин-3,5-диамин, Sigma, США) в дозах 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7} М.

Результаты. Изучено влияние фенитоина и ламотригина на пролиферацию клоногенных клеток при воздействии на монослой и при введении в клоны. Показано, что при воздействии фенитоина в дозах 1000 и 100 мкг/мл на гетерогенную популяцию клеток С6 достоверно снижается эффективность клонирования (ЭК) клеток. При низких дозах фенитоина (10 и 1 мкг/мл) ЭК клеток превышает контрольный уровень. В условиях воздействия фенитоина в дозе 1000 мкг/мл на клоногенные клетки в клонах ЭК достоверно снижается по сравнению с контролем. Также наблюдается увеличение доли неклоногенных клеток. Регистрируется низкая ингибирующая активность ламотригина в дозе 10^{-4} М на клоногенные клетки в клонах. В условиях воздействия фенитоина и ламотригина на монослой клеток и клоногенные клетки в клонах достоверно снижается активность ЩФ и ЛДГ по сравнению с контролем.

Заключение. При воздействии фенитоина и ламотригина на клоногенные клетки в монослое клеток С6 и в клонах снижается ЭК клоногенных клеток и активность ферментов метаболизма. Можно предположить, что блокировка глутаматными антагонистами активного ионного тока через цитоплазматическую мембрану может быть именно тем механизмом, который обусловливает антипролиферативный эффект.

А.А. Николина, Н.Ю. Кульбачевская, О.И. Коняева, Н.П. Ермакова, В.А. Чалей, А.А. Сергеев, К.А. Сережин, В.М. Бухман

СУБХРОНИЧЕСКАЯ ТОКСИЧНОСТЬ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ ГЛИКОЗИДНОГО ПРОИЗВОДНОГО ИНДОЛОКАРБАЗОЛА НА СОБАКАХ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. ЛХС-1208 – новый противоопухолевый препарат на основе гликозидного производного индолокарбазола, разработанный в лаборатории химического синтеза РОНЦ им. Н.Н. Блохина. Данная работа является продолжением токсикологических исследований ЛХС-1208.

Цель исследования – изучение субхронической токсичности нового противоопухолевого лекарственного средства ЛХС-1208 на собаках.

Материалы и методы. Работа проводилась на 4 собаках (3 самки и 1 самец) породы английский бигль, полученных из разведения РОНЦ им. Н.Н. Блохина. Препарат (серия 110414) растворяли в воде для инъекций до получения рекомендованной концентрации – 3,0 мг/мл. ЛХС-1208 вводили собакам ежедневно внутривенно 15-кратно в 2 суммарных дозах 20 и 30 мг/кг. Дозы были рассчитаны исходя из данных, полученных в результате изучения субхронической токсичности на крысах. Собаки были выведены из эксперимента на 3-и и 60-е сутки после окончания курса введения ЛХС-1208.

Результаты. Установлено, что ЛХС-1208 при внутривенном ежедневном 15-кратном применении в суммарных дозах 20 и 30 мг/кг не вызывал гибели животных. У всех собак наблюдались внешние проявления интоксикации и изменения поведенческих реакций только после первого введения препарата в течение 5 мин: собаки трясли головой, наблюдались акты дефекации и мочевыделения, состояние оглушенности, ступора, жажды, сокращения мышц живота, подергивание лап. Установлено, что ЛХС-1208 в исследованных дозах вызывал недозозависимое уменьшение количества тромбоцитов; оказывал недозозависимое влияние на углеводный обмен и функцию поджелудочной железы, что проявлялось тенденцией к снижению уровня глюкозы в сыворотке крови с 7-х суток и до конца наблюдения; оказывал недозозависимое влияние на синтезирующую функцию печени, что проявлялось тенденцией к снижению количества общего белка и альбумина с 21-х суток и до конца наблюдения; но не вызывал нарушения барьерной функции печени (уровни аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, лактатдегидрогеназы, общего билирубина колебались в пределах физиологической нормы для данного вида), а также не оказывал влияния на функциональное состояние почек. Установлено, что препарат ЛХС-1208 вызывал количественные и качественные изменения электрической активности сердца: увеличение интервалов QT и PQ, инверсию зубца Т и появление глубокого зубца Q.

Заключение. На основании полученных данных по изучению субхронической токсичности препарата ЛХС-1208 при 15-кратном ежедневном внутривенном введении собакам в суммарных дозах 20 и 30 мг/кг установлены лимитирующие виды токсичности, ограничивающие клиническое применение препарата: гематотоксичность (тромбоцитопения), гепатотоксичность и кардиотоксичность.

Д.В. Новиков[1], С.Г. Фомина[1], Н.Н. Гурина[1], Н.В. Красногорова[1], А.Д. Перенков[2], Р.Г. Пегов[2], Л.Б. Луковникова[2], В.В. Новиков[1], А.Ю. Барышников[3]

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УРОВНЕЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В ОПУХОЛЯХ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ТОЛСТОЙ КИШКИ

[1]ФГАОУ ВО «ННГУ им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород; [2]ГБОУ ВПО НижГМА Минздрава России, Нижний Новгород; [3]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Развитие и прогрессия злокачественных опухолей тесно связаны с изменением экспрессии генов иммунной системы. Одним из модуляторов транскрипционных изменений в раковой клетке является MUC1 (CD227), участвующий в передаче сигналов, приводящих к изменениям метаболизма, адгезии, пролиферации и апоптоза. Экспрессия MUC1 опухолевыми клетками эпителиального происхождения ассоциирована с плохим прогнозом течения заболевания и негативным ответом на терапию.

Цель исследования – характеристика экспрессии генов иммунной системы *IL32*, *Fas*, *ICAM1*, *FoxP3*, *FCRIII* в MUC1-позитивных ($MUC1^+$) и MUC1-негативных ($MUC1^-$) опухолевых очагах больных раком молочной железы (РМЖ) и раком толстой кишки (РТК).

Материалы и методы. В образцах опухолевых очагов 40 больных РМЖ и 58 больных РТК исследовали уровни мРНК MUC1, IL32, Fas, ICAM1, FoxP3, FCRIIIA и FCRIIIB

методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени.

Результаты. Среди опухолевых очагов РМЖ 80 % были MUC1$^+$, а среди опухолевых очагов РТК MUC1$^+$ были 78 % образцов. MUC1$^+$ опухоли РМЖ показали повышенный уровень мРНК IL32, FoxP3, ICAM1 и пониженный уровень мРНК Fas. В MUC1$^+$ опухолевых очагах РТК регистрировалось повышение уровня мРНК IL32, а в MUC1$^-$ опухолевых очагах – повышение уровня мРНК Fas, ICAM1, FCRIIIA и FCRIIIB.

Заключение. MUC1$^+$ опухолевые очаги РМЖ и РТК характеризуются повышенной экспрессией генов, опосредующих воспаление. В MUC1$^-$ опухолях наблюдалась повышенная экспрессия проапоптотического гена Fas. Интересно отметить, что в MUC1$^-$ опухолевых очагах РТК регистрировалась повышенная экспрессия генов *FCRIIIA* и *FCRIIIB*, характерная для клеток, принимающих участие в антитело-зависимой цитотоксичности, а также нейтрофилов и базофилов.

В.В. Новиков[1], М.Е. Мамаева[2], А.В. Алясова[2], А.Ю. Барышников[3]

РАСТВОРИМЫЕ ДИФФЕРЕНЦИРОВОЧНЫЕ МОЛЕКУЛЫ КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ОНКОГИНЕКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

[1]ФГАОУ ВО «ННГУ им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород;
[2]ГБОУ ВПО НижГМА Минздрава России, Нижний Новгород;
[3]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Растворимые формы дифференцировочных молекул клеток иммунной системы и молекул главного комплекса гистосовместимости обладают иммунорегуляторным действием, образуются несколькими путями, их уровень в сыворотке крови может быть использован в мониторинге онкологических больных.

Цель исследования – оценить мониторинговое значение сывороточного уровня растворимых дифференцировочных молекул и молекул гистосовместимости при онкогинекологических заболеваниях.

Материалы и методы. В работе использовали образцы сыворотки крови 142 больных с патологией шейки и тела матки. Сывороточный уровень растворимых дифференцировочных молекул и молекул гистосовместимости определяли с помощью разработанных ранее иммуноферментных методов с применением моноклональных антител серии ИКО.

Результаты. У больных раком шейки матки обнаружено статистически значимое возрастание сывороточного уровня растворимых белков CD95, HLA I класса, HLA-DR, CD50, CD54 и суммарной фракции растворимых молекул CD38 на фоне снижения уровня олигомерной фракции растворимых молекул CD38. Рак тела матки характеризуется нормальным уровнем растворимых молекул CD95, CD50, CD54 на фоне повышенного содержания растворимых молекул HLA I класса и HLA-DR, а также растворимых молекул CD38. Развитие доброкачественных опухолей матки сопровождается значимым увеличением уровня растворимых молекул CD38, CD95 и CD50, растворимых молекул HLA I класса и HLA-DR. Содержание CD54 достоверно не изменяется. К факторам неблагоприятного прогноза заболевания у больных злокачественными опухолями относятся исходно сниженный уровень растворимых молекул CD95, CD38, CD50 и олигомерной фракции растворимых молекул CD54, у больных с доброкачественными новообразованиями – исходно низкий уровень растворимых молекул CD95 и олигомерной фракции растворимых молекул CD54.

Заключение. Оценка сывороточного уровня растворимых дифференцировочных молекул и молекул главного комплекса гистосовместимости у больных со злокачественной и доброкачественной онкогинекологической патологией позволяет выделить дополнительные критерии, характеризующие прогноз заболевания.

Р.И. Нуриев

ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ СОВРЕМЕННОЙ ИММУНОТЕРАПИИ

ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

Введение. XXI век ознаменовал собой переход на совершенно отличную от существовавшей ранее стратегию ведения больных, предоставив возможность индивидуального подхода к каждому пациенту. Персонифицированная медицина и внедрение таргетных препаратов принесли поразительные результаты и в области онкологии. Одним из новейших и быстро развивающихся направлений является разработка иммунотаргетной терапии, позволяющей воздействовать на химио- и радиорезистентные опухоли. Однако вследствие необходимости индивидуального подхода, а также неодинаковых значений уровня ответа на терапию важнейшей остается проблема отбора пациентов для назначения лечения и прогнозирования результатов. Предложенные сегодня прогностические критерии не позволяют достоверно оценить возможный благоприятный эффект от терапии и нуждаются в дальнейшей разработке.

Цель исследования – определить основные направления иммунотерапии онкологических больных с применением иммунотаргетных препаратов и провести обзор существующих прогностических критериев для назначения данного вида лечения.

Материалы и методы. Анализ современной научной литературы по данному направлению.

Результаты. Наиболее полно охарактеризовать иммунотерапию оказалось возможным на примере одной из самых злокачественных опухолей человека – меланомы, в качестве лечения которой были утверждены новейшие иммунотаргетные препараты из группы ингибиторов иммунных контрольных точек. Эти препараты показали значительную эффективность при проведении крупных рандомизированных исследований, повысив показатели долговременной выживаемости в среднем в 2 раза по сравнению с химиотерапией. Для решения проблемы отсутствия прогностических критериев были предложены и исследованы некоторые характеристики опухолевой ткани, такие как лимфоцитарная инфильтрация и хемокиновый профиль. Иммунная инфильтрация явилась наиболее мобильной характеристикой злокачественного новообразования, самостоятельно не способной служить достоверным показателем необходимости иммунотерапии. Позже в каче-

стве биомаркеров иммуночувствительных неоплазий были описаны генетическая подвижность новообразования и уровни экспрессии иммуносупрессорных молекул в опухолевом микроокружении. Однако, несмотря на теоретическую обоснованность, достоверность данных критериев в клинической практике оказывается довольно низкой.

Заключение. Иммунотаргетные препараты показали значительную эффективность в лечении злокачественных новообразований, сильно опередив химиотерапию. Однако на сегодняшний день все еще не решена проблема отсутствия достоверных прогностических критериев отбора пациентов для назначения иммунотерапии, поскольку ни один из предложенных биомаркеров опухолевой ткани не оказался самодостаточным. Оценить благоприятный эффект от лечения возможно, лишь объединив и тщательно проанализировав многочисленные иммунологические показатели опухолевой массы.

К.В. Няза[1], Ф.С. Сенатов[1], Н.Ю. Анисимова[2], М.В. Киселевский[2], А.В. Максимкин[1], Д.И. Чуков[1], С.Д. Калошкин[1]

ПОРИСТЫЙ КАРКАС ДЛЯ ЗАМЕЩЕНИЯ ДЕФЕКТОВ КОСТНОЙ ТКАНИ, ПОЛУЧЕННЫЙ МЕТОДОМ 3D-ПЕЧАТИ

[1]НИТУ МИСиС, Москва;
[2]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Полимерные каркасы для замещения дефектов костной ткани должны быть биосовместимыми, повторять архитектонику кости, иметь механические свойства, близкие к костной ткани, а также содержать компоненты для обеспечения контактного остеогенеза и остеоинтеграции с окружающей тканью. Формирование высокопористых структур с заданными характеристиками возможно методом 3D-печати.

Цель исследования – изучение микроструктуры и свойств пористого каркаса на основе полилактида (ПЛА).

Материалы и методы. В качестве полимерной матрицы каркаса использовали ПЛА (Ingeo, Natureworks) с молекулярной массой 88500 г/моль, биоактивного компонента – порошок гидроксиапатита (ГАП) производства «Полистом» со средним размером частиц 1 мкм. Исследование теплофизических свойств проводили методом дифференциальной сканирующей калориметрии. Печать пористого каркаса ПЛА + 15 % ГАП производилась по заранее сформированной компьютерной модели при помощи 3D-принтера PICASO DesignerPRO-250 (диаметр сопла 400 мкм) методом послойного наплавления с толщиной слоя 150 мкм. Структуру каркасов исследовали методом сканирующей электронной микроскопии. Исследование механических свойств на сжатие проводили на универсальной испытательной машине ZWICK/ROELL Z020. Исследования образцов *in vivo* выполняли посредством подкожной имплантации мышам на 3 мес.

Результаты. Средний размер формируемых в ходе 3D-печати пор составил 700 мкм, а объемная пористость – 50 %. Все поры связаны между собой сетью каналов. Предел прочности пористого каркаса на сжатие составил 55 МПа, модуль Юнга – 3,4 ГПа. По результатам испытаний на малоцикловую усталость, материал выдерживает до 5000 циклов при максимальной нагрузке 30 МПа без значимых изменений геометрии и потерь механических свойств. За время имплантации образцы претерпевали незначительные изменения размерных и конфигуративных характеристик: наблюдалось сглаживание углов и уменьшение толщины образцов. Поверхность извлеченного образца обладала умеренной шероховатостью, а также признаками незначительной резорбции. В области имплантации образца не было обнаружено демаркационной линии, скопления гноя, отека и других признаков воспаления или отторжения.

Заключение. По результатам исследований биосовместимости, структуры, а также механических свойств в статическом режиме и испытаний на малоцикловую усталость можно сделать выводы, что пористый каркас ПЛА + 15 % ГАП по этим характеристикам близок к губчатой костной ткани и может служить основой биоинженерных конструкций, функционирующих в малых слабонагруженных участках скелета.

Работа выполнена в рамках ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы» при финансовой поддержке государства в лице Минобрнауки России (соглашение № 14.575.21.0088 от 21.10.2014; уникальный идентификатор прикладных научных исследований RFMEFI57514X0088).

А.А. Овсепян[1], Е.И. Каторкина[2], Е.О. Анисимова[1], Е.Н. Вареник[1], М.В. Лыков[1]

ПРИМЕНЕНИЕ ОРТОТОПИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНОЙ КАРЦИНОМЫ RENCA В НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ И ПРИКЛАДНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ООО «МБЦ «ГЕНЕРИУМ»

[1]ООО «МБЦ «Генериум», Москва;
[2]ООО «Селлтера Фарм», Москва

Введение. Животные модели опухолей широко применяются для тестирования рациональных стратегий и подходов при лечении различных опухолей у людей. Начиная с 1990 г. модели почечно-клеточной карциномы широко использовались как для тестирования различных препаратов, так и для выявления терапевтических мишеней и изучения механизма рака почки человека.

Цель исследования – создание дозозависимой хирургической модели почечно-клеточной карциномы в соответствии с нормами и правилами, указанными в «Политике работы с животными МБЦ «Генериум»» и «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals», для тестирования исследуемых препаратов и разработки новых подходов к лечению.

Материалы и методы. В экспериментах использовались самки мышей линии BALB/c, категории SPF, в возрасте 11–12 нед. Содержание, уход и кормление мышей проводились в соответствии с установленными международными нормами. Все работы выполнялись с соблюдением правил асептики и гуманного обращения с животными. Применялись золетил-ксилазиновый наркоз и анальгезия флексопрофеном. Клеточная линия почечно-клеточной карциномы Renca получена из ATCC, № CRL-2947. Кожу рассекали в области проекции левой почки. После лапаротомии выводили почку в область операционной раны. Опу-

холевые клетки вводили инсулиновым шприцем с иглой 30G. Делали прокол почки по большой кривизне таким образом, чтобы игла оказалось в субкапсулярной области на противоположной от места прокола стороне. Для исследования зависимости развития опухоли от количества введенных опухолевых клеток было сформировано 3 группы, в которых мышам вводили соответственно по 2×10^3 (1-я группа; $n = 16$), 2×10^4 (2-я группа; $n = 16$) и 1×10^5 (3-я группа; $n = 10$) клеток Renca в 15 мкл фосфатно-солевого буферного раствора.

Результаты. Эвтаназию с патоморфологической и гистологической оценкой проводили на 21-й и 28-й дни эксперимента. Также рассчитывали индекс опухолевого процесса (ИОП), учитывающий размер опухоли, уровень метастазирования и выживаемость. По массе инвазированной почки были получены следующие результаты: на 21-й день – 0,26 ± 0,02; 0,87 ± 0,13 и 1,82 ± 0,35 г в 1-й, 2-й и 3-й группах соответственно; на 28-й день – 0,63 ± 0,09 г в 1-й группе и 3,33 ± 0,43 г во 2-й. В 3-й группе все мыши умерли к 27-му дню опухолевого процесса. ИОП на 21/28-й дни был равен 0,5/0,9; 2,0/4,3; 3,4/13,8 в 1-й, 2-й и 3-й группах соответственно.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о дозозависимом развитии опухолевого процесса в модели почечной карциномы Renca. Необходимо отметить 100 % прививаемость опухолевых клеток и статистически достоверную разницу результатов, полученных в ходе исследования. Показана возможность экспериментального моделирования опухолевого процесса различной продолжительности, что позволит испытывать противоопухолевые лекарственные средства с различным механизмом действия, в том числе предполагающим их длительное введение.

С.В. Одинцова, Е.А. Маслюкова, В.А. Одинцов, Р.М. Жабина, А.А. Поликарпов

РОЛЬ РЕГИОНАРНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ В КОМБИНИРОВАННОМ ЛЕЧЕНИИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ ФОРМЫ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ГБОУ ВПО «Первый СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург;
ФГБУ РНЦРХТ Минздрава России, Санкт-Петербург

Введение. Воспалительная форма составляет приблизительно 5 % всех случаев рака молочной железы (РМЖ). В последние 10 лет способы лечения пациентов с воспалительным РМЖ (ВРМЖ) включают химиотерапию, операцию и облучение. Однако стандартов лечения ВРМЖ не установлено.

Цель исследования – повышение эффективности комбинированного химиолучевого лечения больных ВРМЖ с применением химиоэмболизации (ХЭ) и/или химиоинфузии (ХИ) внутренней и наружной грудных артерий с последующей радикальной лучевой терапией (ЛТ) и химиотерапией.

Материалы и методы. С 2000 по 2014 г. проведено лечение 179 пациенток с ВРМЖ. В исследуемой группе селективная внутриартериальная полихимиотерапия в неоадъювантном режиме с последующей радикальной ЛТ была проведена у 67 (37,4 %) больных с первично-неоперабельным (T4b) ВРМЖ. Контрольную группу составили 112 (62,6 %) пациенток с ВРМЖ. В исследуемой группе проводили масляную ХЭ ($n = 43$) или ХИ ($n = 24$) внутренней и/или наружной грудных артерий с использованием 50 мг метотрексата, 1000 мг 5-фторурацила, смешанных с 2–5 мл липиодола ($n = 36$), в другой группе – 80–100 мг таксотера и 4 мл липиодола ($n = 31$). Через 1 сут после ХЭ или ХИ начинали ЛТ. Облучение проводили в режиме среднего фракционирования (3 Гр) до суммарной дозы на основание молочной железы 45–48 Гр, на регионарные лимфатические узлы – 36–39 Гр. Через 2–3 нед после окончания ЛТ проводили системную химиотерапию по схеме CMF или АТ (также 5 циклов). В контрольной группе проводили неоадъювантную полихимиотерапию с последующей операцией, если больные переходили в операбельное состояние. В контрольной группе самостоятельная ЛТ проводилась у 46 пациенток, послеоперационная ЛТ – у 49.

Результаты. Все больные исследуемой группы завершили терапию в установленные сроки. В исследуемой группе радикальная мастэктомия была выполнена у 25 пациенток, в контрольной – у 66. По данным операционного материала полный ответ на неоадъювантную терапию в исследовательской группе достигнут у 16 (64 %), частичный – у 9 (36 %) больных. В контрольной группе полный ответ достигнут у 24 (36 %), частичный – у 42 (64 %) пациенток ($p < 0,05$). Пятилетняя выживаемость в группе с ангиографией не зависела от выполнения мастэктомии. По нашему мнению, это связано с тем, что часть пациенток, у которых был достигнут полный ответ на проведенное лечение (ангиография + ЛТ), отказались от операции. В контрольной группе отмечалась такая же тенденция. Не было выявлено различий между группами «химиотерапия + операция» и «химиотерапия + ЛТ». Годичная выживаемость в исследуемой группе составила 99 %, 2-летняя – 92,3 %, 3-летняя – 80,7 %, 5-летняя – 66,8 %. Годичная выживаемость в контрольной группе составила 95,3 %, 2-летняя – 83,7 %, 3-летняя – 65,9 %, 5-летняя – 38,8 %. Выживаемость больных в исследуемой группе была достоверно выше, чем в контрольной ($p < 0,05$).

Заключение. Комбинированное химиолучевое воздействие с использованием ХЭ/ХИ – безопасный и высокоэффективный метод лечения больных ВРМЖ. При ВРМЖ ЛТ в сочетании с ХЭ приводит к высокой выживаемости на протяжении 5 лет среди пациенток, успешно завершивших курс запланированного лечения.

Н.Д. Олтаржевская[1], М.А. Коровина[1], Е.А. Маслюкова[2], Л.И. Корытова[2], С.И. Ткачёв[3], О.П. Трофимова[3]

ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ЛУЧЕВЫХ РЕАКЦИЙ ГЕЛЕМ «КОЛЕГЕЛЬ»

[1]ООО «КОЛЕТЕКС», Москва;
[2]ФГБУ РНЦРХТ Минздрава России, Санкт-Петербург;
[3]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Исследования проводились в РНЦРХТ на 20 больных раком молочной железы (РМЖ) и в радиологическом отделении РОНЦ им. Н.Н. Блохина на 26 больных раком анального канала. Исследовалась возможность использования материала «Колегель» для профилактики и лечения лучевых реакций.

Материалы и методы. В исследование были включены 20 пациенток с РМЖ, которым проводилась лучевая терапия (ЛТ) с вовлечением надключичных и подключичных лимфатических узлов. Больные были разделены на 2 группы по 10 пациенток. Все больные получали многокомпонентный гель на основе альгината натрия с актовегином, гидрокортизоном, димексидом и мексидолом. В 1-й группе в целях профилактики использовали «Колегель» – салфетку гидрогелевую «Колетекс-Д», в которую предварительно дополнительно вводили гидрокортизон (0,4 % (масс.)), мексидол (0,9 % (масс.)) и актовегин (2,5 % (масс.)) (далее – гель). Больные получали гель с 1-го дня ЛТ, весь курс и 7 дней после окончания ЛТ. Во 2-й группе пациентки получали гель после появления болевого синдрома при глотании, прием геля продолжался до окончания ЛТ и 7 дней после ЛТ. При плоскоклеточном раке анального канала с целью профилактики возникновения, а затем и лечения ранних лучевых повреждений слизистой оболочки прямой кишки всем больным было рекомендовано введение вышеуказанного геля в прямую кишку и во влагалище. Обработка слизистых оболочек проводилась с середины курса лечения в течение 2,5–3 мес (окончание через 1,5–2 мес после завершения курса ЛТ).

Результаты. При лечении РМЖ в 1-й группе болевой синдром возник в среднем на дозе 24 Гр (8-й сеанс) у 5 пациенток, интенсивность боли не превышала 2–3 балла. Во 2-й группе болевой синдром в виде болей в горле появлялся на дозе 18 Гр (после 6-го сеанса), интенсивность боли в среднем составляла 6–8 баллов. Во 2-й группе после начала приема многокомпонентного геля через 2 сут боль уменьшалась до 4–5 баллов, а к 5-м суткам у 6 пациенток снизилась до 2 баллов и у 4 больных – до 0. При лечении рака анального канала отмечено достоверное снижение выраженности постлучевых повреждений у 92 % больных, полное отсутствие ранних лучевых повреждений слизистых оболочек прямой кишки и влагалища – у 70 % пациентов.

Заключение. Салфетка гидрогелевая «Колетекс-Д», в которую предварительно дополнительно вводились гидрокортизон (0,4 % (масс.)), мексидол (0,9 % (масс.)) и актовегин (2,5 % (масс.)), может использоваться для профилактики и лечения постлучевых реакций, индуцированных ЛТ.

О.А. Омельчук[1, 2], А.С. Тихомиров[1, 2], Л.Г. Деженкова[1], А.Е. Щекотихин[1, 2]

ВЛИЯНИЕ ЗАМЕСТИТЕЛЕЙ В *ПЕРИ*-ПОЛОЖЕНИЯХ НА АНТИПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ СВОЙСТВА АНТРАФУРАНКАРБОКСАМИДОВ

[1]ФГБНУ «НИИНА им. Г.Ф. Гаузе», Москва;
[2]ФГБОУ ВО «РХТУ им. Д.И. Менделеева», Москва

Введение. Производные 4,11-дигидроксиантра[2,3-*b*]-фуран-5,10-дион-3-карбоксамида проявляют высокую противоопухолевую активность и способны преодолевать множественную лекарственную устойчивость в опухолевых клетках, а соединение-лидер этого ряда – антрафуран ЛХТА-2034 (Щекотихин А.Е. и др. Патент РФ № 2554939, 2015) – рекомендовано для клинических испытаний.

Цель исследования – изучение роли гидроксигрупп в *пери*-положениях антрафурандиона ЛХТА-2034 на антипролиферативную активность соединений этого химотипа.

Материалы и методы. Новые 4- и 11-хлорзамещенные аналоги 2-метилантра[2,3-*b*]фуран-5,10-дион-3-карбоксамида ЛХТА-2034, а также 4,11-дихлорпроизводное получены хлорированием этилового эфира 4,11-дигидроксо-5,10-диоксо-2-метилантра[2,3-*b*]фуран-3-карбоновой кислоты (Щекотихин и др. Патент РФ № 2554937, 2015), а также последующими реакциями кислотного гидролиза и конденсацией соответствующей кислоты с 3-аминопирролидином. Цитотоксичность хлорзамещенных антрафурандион-3-карбоксамидов определяли на линиях клеток карциномы шейки матки человека HeLa, Т-лимфоцитах человека CEM, лейкемии мыши L1210 путем окрашивания клеток трипановым синим и подсчетом их количества в счетчике Коултера, а также МТТ-тестом на линиях клеток миелоидного лейкоза человека K562 и карциномы кишечника HCT-116.

Результаты. Замена одной гидроксильной группы на атом хлора в положении 4 или 11 антрафурандион-3-карбоксамида ЛХТА-2034 вызывает снижение антипролиферативной активности соединений в 2–5 раз в отношении линий клеток HeLa и CEM. Последующая модификация второй гидроксигруппы в *пери*-положении приводит к значительному (в 3–30 раз) снижению способности 4,11-дихлораналогов препарата ЛХТА-2034 блокировать рост всех тестируемых линий опухолевых клеток.

Заключение. Последовательная замена гидроксигрупп в *пери*-положениях антрафуранкарбоксамида ЛХТА-2034 на атомы хлора приводит к пропорциональному снижению антипролиферативной активности производных, что говорит о критической роли заместителей в этих позициях.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-33-00908 мол_а

В.Н. Осипов[1, 2], А.В. Колотаев[1], А.Н. Балаев[2], К.А. Охманович[2], Л.И. Смирнова[3], М.А. Барышникова[3], С.Ю. Фролова[1], Е.А. Ручко[2], Д.С. Хачатрян[1]

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ПЕПТИДНЫХ АНАЛОГОВ СОМАТОСТАТИНА

[1]ФГУП ИРЕА, Москва;
[2]ЗАО «Фарм-Синтез», Москва;
[3]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Цель исследования – синтез и определение цитотоксической активности новых линейных пептидов, аналогов соматостатина.

Материалы и методы. Короткий период полужизни соматостатина в организме ставит задачу разработки аналогов, имеющих более высокую устойчивость к ферментативному расщеплению. Одним из перспективных направлений является поиск активных соединений в области коротких линейных пептидов с различными функциональными заместителями. Объектами наших исследований являются модифицированные линейные пентапептиды, аналоги соматостатина.

Результаты. Синтезированы и очищены с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (содержание основного вещества более 98 %) различные модифицированные пентапептиды с объемными амидными заместителями на С-конце. В частности, получены такие

амиды, как бензиламид, 1-нафтиламид, 1-адамантиламид, N-1-(1-адамантил)этиламид. Исследована цитотоксическая активность полученных соединений на линиях клеток рака молочной железы MCF-7, аденокарциномы предстательной железы PC-3, колоректального рака HCT-116. Синтезированные пептиды проявили существенную цитотоксическую активность, со значениями концентрации полумаксимального ингибирования в микромолярном диапазоне.

Заключение. Найдены новые активные модифицированные пентапептиды – аналоги соматостатина, определены направления дальнейшей оптимизации структуры пептидов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 14.576.21.0044 от 05.08.2014 (RFMEFI57614X0044).

Л.А. Островская[1], Д.Б. Корман[1], Н.В. Блюхтерова[1], М.М. Фомина[1], А.К. Грехова[1], В.А. Рыкова[1], А.Н. Осипов[2], К.А. Абзаева[3], Л.В. Жилицкая[3]

ПОЛИАКРИЛАТ ЗОЛОТА – ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

[1]ФГБУН «ИБХФ им. Н.М. Эмануэля» РАН, Москва;
[2]ФГБУН «ИХФ им. Н.Н. Семёнова» РАН, Москва;
[3]ФГБУН «ИрИХ им. А.Е. Фаворского» СО РАН, Иркутск

Введение. Ранее нами была обнаружена противоопухолевая активность в ряду металлополиакрилатов (МПА), относящихся к новому для онкологии классу соединений. МПА представляют собой группу потенциальных локальных гемостатиков нового поколения, разработанных под руководством акад. М.Г. Воронкова. Препараты наряду с кровоостанавливающим действием обладают высокой антимикробной активностью в отношении основных штаммов возбудителей инфекций. Фармакологический механизм действия препаратов предположительно связан с образованием интерполимеров с белками плазмы крови. При исследовании зависимости противоопухолевого эффекта от структуры соединения нами была выявлена значительная ростингибирующая активность полиакрилатов благородных металлов.

Цель исследования – расширенное изучение противоопухолевой активности наиболее эффективного из изученных препаратов – полиакрилата золота (ауракрил) на моделях солидных опухолей мышей *in vivo* и в отношении клеточной линии опухоли человека MCF7 *in vitro*.

Материалы и методы. Опухолевыми тест-системами *in vivo* служили аденокарцинома АКАТОЛ (мыши BALB/c), аденокарцинома Са755, карцинома легких Льюис (мыши BDF_1), перевиваемые подкожно в соответствии со стандартной методикой. Эксперименты *in vitro* проведены с использованием культуры клеток карциномы молочной железы человека MCF7. Противоопухолевый эффект ауракрила (20 мг/кг внутрибрюшинно, ежедневно, пятикратно, начиная со следующих суток после перевивки опухоли), оцениваемый при сопоставлении кинетики развития опухолей в группах леченых и контрольных животных, характеризовался с помощью коэффициента торможения роста опухоли. Цитотоксический эффект препарата в культуре определяли в диапазоне концентраций от 0,001 до 1 мг/мл путем оценки жизнеспособности клеток в тесте с трипановым синим.

Результаты. Установлено, что ауракрил ингибирует развитие изученных солидных опухолей на 80–90 % на протяжении 16–20 сут после окончания введения препарата, увеличивая среднюю продолжительность жизни мышей на 30 % по сравнению с контролем. Обнаружен дозозависимый цитотоксический эффект ауракрила. Показано, что препарат вызывает гибель до 90 % клеток в культуре MCF7 при воздействии в концентрации 1 мг/мл в течение 24 ч.

Заключение. Значительная ростингибирующая активность ауракрила на моделях солидных опухолей животных *in vivo* и высокий цитотоксический эффект препарата в отношении клеток опухоли человека *in vitro* свидетельствуют о целесообразности углубленного доклинического изучения противоопухолевых свойств и механизма действия полиакрилата золота.

И.Н. Павлова[1], О.М. Конопацкова[2], Д.А. Екатеринушкин[1]

ИММУНОКОРРЕКЦИЯ У БОЛЬНЫХ МЕЛАНОМОЙ

[1]НУЗ «Дорожная клиническая больница на станции Саратов-II ОАО «РЖД», Саратов;
[2]ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов

Введение. Известно, что клиническое течение меланомы находится в прямой зависимости от исходных показателей иммунитета, а одним из факторов, влияющих на иммунитет, является вид лечения пациентов.

Цель исследования – оценить эффективность иммунокоррекции нуклеинатом натрия и деринатом у больных меланомой при различных вариантах лечения.

Материалы и методы. Оценка иммунологического статуса и эффективность коррекции проведена у 117 больных меланомой. Преобладали женщины – 76 %; средний возраст пациентов – старше 50 лет (63 %). Толщина опухоли (по Breslow) в 54 % наблюдений была более 1,5 мм, а уровень инвазии (по Clark) в 51 % был III степени. Во всех случаях метастазов в лимфатические узлы не было. Больных разделили на 2 группы: выполнено только хирургическое лечение– 96 пациентов (1-я группа), добавлена предоперационная лучевая терапия (5 дней, суммарная очаговая доза 50 Гр) – 21 пациент (2-я группа). Иммунотерапия проводилась нуклеинатом натрия (1–3 раза в день в течение 10 дней), деринатом (1,5 % – 5 мл внутримышечно в течение 1 сут, 5–7 инъекций) 2–4 раза в год в зависимости от состояния больного и лабораторных показателей.

Результаты. При исходном исследовании иммунологического статуса у 76 % больных констатирована тенденция к снижению абсолютного и относительного содержания $CD3^+$-лимфоцитов, а также значительное снижение процентного содержания $CD4^+$-лимфоцитов. Улучшение показателей иммунитета при коррекции указанными препаратами отмечено через 3 мес. Восстановление до нормы абсолютного количества $CD3^+$-лимфоцитов зарегистрировано у 88 % по сравнению с исходными данными, что является благоприятным прогностическим признаком. У пациентов 2-й группы при аналогичных исходных показателях иммунитета улучшение отмечено только у 51 %. Больные наблюдались более 2 лет. Иммуномониторинг показал,

что при регулярном использовании нуклеиновых препаратов происходит восстановление показателей иммунитета до нормы в течение 6 мес у больных 1-й группы, в течение года – у пациентов 2-й группы.

Заключение. Выраженный иммуномодулирующий эффект применения нуклеиновых препаратов способствует длительному безрецидивному течению заболевания.

И.В. Панченко, И.Б. Зборовская, В.Н. Богатырёв, М.И. Нечушкин, Е.С. Макаров

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЕЛЕЦИЙ В ХРОМОСОМНЫХ ЛОКУСАХ ОПУХОЛЕЙ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКОВ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Неудовлетворительные отдаленные результаты лечения больных раком яичников являются основанием для поиска новых биологических маркеров – предикторов течения заболевания у данной категории пациентов.

Цель исследования – определить потерю гетерозиготности и микросателлитную нестабильность в зонах локализации генов-супрессоров, ассоциированных с развитием и прогрессией рака яичников.

Материалы и методы. В опухолях 80 больных оценивали генетическую нестабильность (потерю гетерозиготности) в 5 хромосомных локусах (1p32–36, 7q31.1–3, 11p15, 17q12–21, 18q21-23) с использованием 19 микросателлитных маркеров с помощью полимеразной цепной реакции.

Результаты. Делеции в локусах 7q31–53, 11p15, 17q12–21 возникают чаще в злокачественных опухолях по сравнению с пограничными и доброкачественными новообразованиями, что, по нашему мнению, указывает на наличие в этих областях генов-супрессоров, являющихся одним из звеньев канцерогенеза. Чаще всего потери гетерозиготности обнаружены в локусе 17q12–21 (77,8 %), а реже всего – в 1p32–36 (20,4 %). Высокая частота делеций в локусе 17q12–21 может свидетельствовать о том, что ген *BRSA1* вовлечен в канцерогенез не только наследственных, но и спорадических форм рака яичников. Невысокая, близкая к фоновой потеря гетерозиготности в локусах 1p32–36, 18q21–23 практически исключает наличие в этих областях генов, участвующих в канцерогенезе при раке яичников. При анализе зависимости количества делеций с учетом стадии заболевания выявлена тенденция увеличения потери гетерозиготности практически во всех изучаемых локусах при III–IVстадиях болезни. Не выявлено корреляции между степенью дифференцировки опухолей и количеством делеций во всех изучаемых локусах. При анализе результатов 5-летней общей и безрецидивной выживаемости оказалось, что имеются достоверные различия между группами пациентов, в опухоли которых определялись делеции и без таковых в локусах 11p15 и 17q12–21.

Заключение. Полученные данные о различиях в частоте потери гетерозиготности в злокачественных новообразованиях яичников позволяют более полно охарактеризовать отдельные гистологические типы опухолей с молекулярно-генетической точки зрения, определить локусы, содержащие онкогены и гены-супрессоры, участвующие в канцерогенезе при раке яичников, с клинической точки зрения – выделить группу пациентов с неблагоприятным прогнозом.

А.А. Панкратов[1], Т.Н. Андреева[1], Р.И. Якубовская[1], А.Д. Каприн[1], А.А. Конарев[2], Т.В. Якунина[2], Е.А. Лукьянец[2]

ПРЕПАРАТ ЛИМФОТЕСТ ДЛЯ ИНТРАОПЕРАЦИОННОЙ ДИАГНОСТИКИ СТОРОЖЕВЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ

[1]МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ НМИРЦ Минздрава России, Москва;
[2]ФГУП ГНЦ «НИОПИК», Москва

Введение. Наличие метастазов в регионарные лимфатические узлы у больных злокачественными новообразованиями значительно повышает риск дальнейшей генерализации опухолевого процесса и снижает безрецидивную выживаемость. Нами разработан оригинальный препарат Лимфотест, предназначенный для интраоперационной визуализации сторожевых лимфатических узлов, на основе соединения из группы дисульфопроизводных диаминотрифенилметановых красителей, отличающийся от зарубежного аналога препарата Лимфазурин (не зарегистрирован в России) положением сульфогрупп в бензольном кольце – внутренняя/натриевая соль N-[4-(4-диэтиламинофенил)-(2,4-дисульфофенилметилен)-2,5-циклогексадиенилиден-1]-N-этилэтаминий гидроксида. Предлагаемое соединение спектрально практически не отличается от Лимфазурина, однако гораздо более доступно и обладает высокой лимфотропностью.

Цель исследования. Разработка лимфотропного препарата Лимфотест, позволяющего осуществить интраоперационную визуализацию путей лимфоотока от первичного опухолевого очага и сторожевых лимфатических узлов.

Материалы и методы. Исследования проводили на неинбредных крысах-самцах и мышах-гибридах линии F1 с саркомой S37. Опухоль прививали на наружную поверхность бедра, по 5 млн клеток на мышь. Препарат Лимфотест в концентрации 1 % вводили под кожу бедра (крысам), а также интратуморально и по периметру опухолевого узла (мышам с S37) в объеме от 0,15 до 0,20 мл. Через 10 мин после введения препарата животных подвергали эвтаназии путем передозировки эфира для наркоза и исследовали регионарные лимфатические узлы.

Результаты. При изучении диагностической эффективности препарата Лимфотест на интактных крысах и мышах с саркомой S37 (метастазирует в лимфатические узлы) показано, что после подкожного (крысам) или внутриопухолевого (мышам с S37) введения препарата в концентрации 1 % в объеме 150–200 мкл лимфатические узлы и пути лимфооттока регионарной зоны окрашивались в интенсивно синий цвет и легко визуализировались. В пилотных токсикологических исследованиях на мышах установлено, что подкожное введение препарата в дозах от 25 до 500 мг/кг, – превышающих предполагаемую максимальную дозу для человека, равную 0,5 мг/кг, в 50–1000 раз, не приводило к гибели животных. Препарат Лимфотест в концентрации 1 % при однократном подкожном введении не оказывал местно-раздражающего действия.

Заключение. Разработан оригинальный препарат Лимфотест на основе соединения из группы дисульфопроиз-

водных диаминотрифенилметановых красителей, предназначенный для визуализации сторожевых лимфатических узлов; в пилотных исследованиях *in vivo* показана его диагностическая пригодность и безопасность.

Н.В. Пащенко, Е.В. Давыдов

ОПЫТ ЛЕЧЕНИЯ САРКОМ МЯГКИХ ТКАНЕЙ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ МЕТОДОМ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Ветеринарная клиника «РосВет», Москва

Введение. Саркомы мягких тканей (СМТ) – группа злокачественных опухолей, происходящих из мезенхимальных тканей. Они относительно редко метастазируют, инвазируют в окружающие ткани, а также рецидивируют после удаления, особенно если удаление проведено не радикально, что актуально для опухолей сложной локализации (например ротовой полости, головы и т. п.). Особенно сложно лечить СМТ, расположенные в ротовой полости, так как при данной локализации невозможно сделать необходимый захват здоровой ткани. При хирургическом удалении опухолей ротовой полости проводят иссечение новообразования с окружающими тканями и зачастую с костями, делая реконструкцию челюсти имплантами. Мы применили метод фотодинамической терапии (ФДТ) для лечения пациентов с СМТ в области ротовой полости.

Цель исследования – оценить возможности ФДТ для лечения СМТ ротовой полости в качестве органосохраняющего метода.

Материалы и методы. Пациентами были мелкие домашние животные (собаки, кошки) со спонтанно возникшими СМТ (в основном фибросаркома); выбор пал именно на этих животных, так как биологическое поведение опухолей у них наиболее приближено к биологическому поведению образований у человека (в отличие от перевиваемых опухолей). Пациенты – кошки (n = 6) и собаки (n = 3) в возрасте от 8 до 17 лет, диаметр опухоли – 1–3 см; образования плотные, «спаяны» с подлежащими тканями, расположены на слизистой оболочке ротовой полости – деснах, щеках верхнем небе. Фотосенсибилизатор – фотодитазин. Источник лазерного излучения – 662 ± 2 нм, максимальная мощность – 1,5 Вт.

Результаты. ФДТ проводили с фотодитазином (хлорин е6) в дозе 1 мг/кг, который вводился за 3 ч до облучения. Доза облучения составляла от 300 до 400 Дж. Опухоль, как правило, уменьшалась после 1-го сеанса, подвергалась некрозу и отторжению (частично или полностью). Чаще всего для полного регресса требовалось провести от 3 до 5 сеансов облучения (в зависимости от размера образования). Период наблюдения за пациентами составляет на данный момент от 6 до 42 мес.

Заключение. Таким образом, ФДТ возможно применять как самостоятельную методику для лечения СМТ ротовой полости в качестве альтернативы хирургическому вмешательству и лучевой терапии. Также возможно комбинировать ФДТ и оперативное лечение. Применение ФДТ в неоадъювантном режиме позволяет уменьшить размер опухоли, отделить ее от подлежащих тканей, что дает возможность для проведения органосохраняющих операций, увеличивает безрецидивный период и улучшает прогноз заболевания.

Э.Р. Переверзева[1], Н.В. Ерёмкин[1], М.И. Трещалин[1], В.Ю. Балабаньян[2], В.А. Разживина[2], С.Э. Гельперин[2], И.Д. Трещалин[1]

ВЛИЯНИЕ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ НА ТОКСИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ПРЕПАРАТА ДОКСОРУБИЦИН НАНОСОМАЛЬНЫЙ

[1]ФГБНУ «НИИНА им. Г.Ф. Гаузе», Москва;
[2]ООО «Технология лекарств», Москва

Введение. Известно, что вспомогательные вещества могут в значительной степени влиять на фармакологическую активность и токсические свойства лекарственных средств. Для направленного транспорта доксорубицина через гематоэнцефалический барьер был создан препарат НаноДокс, представляющий собой сложную наносомальную лекарственную форму на основе сополимера молочной и гликолевой кислот (ПЛГА), в состав которой в качестве стабилизатора входит поливиниловый спирт (ПВС), а в качестве растворителя используется 1 % водный раствор коллифора (КФ).

Цель исследования – изучение влияния вспомогательных веществ на токсичность лекарственной формы препарата Доксорубицин наносомальный (НаноДокс) (ООО «Технология лекарств», Россия).

Материалы и методы. Исследования проведены на кроликах породы советская шиншилла. ПЛГА-ПВС и КФ вводили внутривенно в краевую вену уха ежедневно в течение 30 дней в разовой дозе, эквивалентной дозе вспомогательных веществ и растворителя, которую получает кролик при введении лекарственной формы НаноДокс в 1/30 лечебной дозы ($ЛД_{50}$) и максимальной потенциальной дозы (МПД). Параметры исследования: изменение массы тела, массовые коэффициенты внутренних органов, ЭКГ, клинический и биохимический анализы крови, суточный диурез, клинический анализ мочи, патоморфологическое исследование органов и тканей.

Результаты. Установлено, что введение ПЛГА-ПВС и КФ в дозе, эквивалентной МПД, не оказывает влияния на клинические показатели и структуру органов и тканей животных. При патоморфологическом исследовании изменения под действием высоких доз ПЛГА-ПВС найдены в печени, почках, селезенке, лимфатических узлах и желудке. В почках они затрагивают главным образом клубочковую систему. В печени, селезенке и лимфатических узлах изменения не носят деструктивного характера, а связаны с активацией и перераспределением макрофагально-моноцитарных и лимфоидных элементов. 30-дневное введение КФ в дозе, суммарно эквивалентной $ЛД_{50}$, вызывает морфологические изменения в печени, почках, тимусе, лимфатических узлах и желудке. Изменения в печени, по-видимому, связаны с накоплением КФ в гепатоцитах. Реакция лимфатических узлов выражается в резком увеличении макрофагальных элементов в корковой и мозговой зоне. В лимфоидной ткани тимуса и слизистой оболочке желудка под действием растворителя возникают явления атрофии. Повреждающее действие КФ на ткань почки является наиболее значимым, так как оно затрагивает как канальцевую, так и клубочковую системы.

Заключение. При значительных передозировках наносомальной лекарственной формы доксорубицина вспомогательные вещества и растворитель могут вносить вклад в развитие гепато- и нефротоксичности, а также в возникновение атрофических изменений в слизистой оболочке желудка.

Э.Р. Переверзева[1], И.Д. Трещалин[1], Е.В. Возняковская[1], Т.Б. Переверзева[1], Д.Г. Козлов[2], С.В. Яроцкий[2]

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ КРОЛИКОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ РЕКОМБИНАНТНОЙ БИОМОДИФИЦИРОВАННОЙ L-АСПАРАГИНАЗЫ WAS79

[1]ФГБНУ «НИИНА им. Г.Ф. Гаузе», Москва;
[2]ФГУП ГосНИИгенетика, Москва

Введение. L-аспарагиназы широко используются в химиотерапии лейкозов. Однако побочное действие этих препаратов значительно ограничивает возможности их клинического применения. Это определяет необходимость создания новых препаратов L-аспарагиназы, обладающих сниженной токсичностью за счет невысокой L-глутаминазной активности. В ГосНИИгенетика был сконструирован химерный вариант Was79 модифицированной L-аспарагиназы *Wolinella succinogenes*, который имеет пониженный уровень глутаминазной активности.

Цель исследования – изучение морфологических проявлений токсического действия L-аспарагиназы Was79 на кроликах в субхроническом эксперименте.

Материалы и методы. Исследование проведено на 60 кроликах породы шиншилла. Препарат вводили внутривенно ежедневно в течение 15 дней с интервалом 24 ч в разовых дозах, составляющих 1 и 5 терапевтических. На 1-е и 15-е сутки по окончании курса введений по 5 животных из группы подвергали эвтаназии. Участки внутренних органов фиксировали в 10 % нейтральном формалине, заливали в парафин, срезы окрашивали гематоксилином и эозином.

Результаты. При применении L-аспарагиназы в дозе, составляющей 1 терапевтическую, возникают умеренные морфологические изменения в печени, почках, селезенке и поджелудочной железе. Структура печени, селезенки и поджелудочной железы полностью восстанавливается к концу эксперимента. При введении L-аспарагиназы в дозе, пятикратно превышающей терапевтическую, гепатотоксические свойства препарата морфологически проявляются сразу после курса введений в виде некроза гепатоцитов вокруг портальных трактов и центральных вен печеночных долек и сохраняются в течение 2 нед по его окончании. Превышение терапевтической дозы в 5 раз приводит к возникновению дистрофических, атрофических и деструктивных изменений во всех зонах почек, вызывает глубокие атрофические изменения лимфоидной ткани селезенки, тимуса и лимфатических узлов. В течение месяца происходит частичная репарация структуры этих органов. Морфологические изменения слизистой оболочки желудка носят очаговый характер и проявляются в изменении соотношения клеточных элементов в железах и повреждении покровно-ямочного эпителия. Повреждающее действие препарата на ткань поджелудочной железы проявляется не у всех животных. У отдельных особей его применение в высокой дозе вызывает некроз ацинусов, кровоизлияние и гибель отдельных клеток в островках Лангерганса.

Заключение. Изменения структуры внутренних органов крыс зависят от величины примененной дозы. При применении высоких доз препарата следует учитывать возможность возникновения деструктивных изменений в печени, почках, поджелудочной железе и желудочно-кишечном канале, а также гипоплазии лимфоидной ткани.

А.Д. Перенков, Д.В. Новиков, А. В., В.В. Новиков

УРОВЕНЬ МАТРИЧНОЙ РИБОНУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ ГЕНА *CD38* В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ТОЛСТОЙ КИШКИ С МЕТАСТАЗАМИ

ФГАОУ ВО «ННГУ им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород

Введение. Белок, кодируемый геном *CD38*, обладает НАД-гидролазной активностью, является маркером активации лимфоцитов и участвует в клеточной адгезии. Для гена *CD38* описано 2 формы матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК) – полноразмерная и усеченная (альтернативная) с делецией 3-го экзона. мРНК альтернативной формы *CD38* кодирует полипептид-антагонист полноценного белка CD38. Его присутствие может снижать вероятность диапедеза клеток иммунной системы и передачи внутриклеточных сигналов, что в конечном итоге приводит к снижению их функциональной активности. Экспрессия молекулы CD38 на мембране клеток используется в качестве прогностического и диагностического маркера при онкогематологических заболеваниях. Однако в литературе недостаточно представлены данные об уровне мРНК гена *CD38* в периферической крови больных раком толстой кишки (РТК).

Цель исследования – изучить уровень обеих форм мРНК гена *CD38* в периферической крови больных РТК, у которых обнаружены метастазы и у больных РТК без метастазов.

Материалы и методы. В работе использовали 47 образцов периферической крови от больных РТК, у которых не обнаружены метастазы, 25 образцов периферической крови больных РТК с метастазами и 86 образцов периферической крови здоровых доноров. Дезоксирибонуклеиновую кислоту выделяли методом фенол-хлороформной экстракции. Уровень мРНК гена *CD38* исследовали с помощью мультиплексного «TaqMan» варианта полимеразной цепной реакции в реальном времени. Измерение уровня мРНК гена *CD38* проводили относительно референтного гена *UBC*.

Результаты. Уровень полноразмерной формы мРНК CD38 в крови больных РТК с метастазами был в 1,5 раза ($p < 0,05$), а альтернативной – в 2 раза ($p < 0,05$) выше, чем у больных без метастазов. Повышение уровня альтернативной формы мРНК CD38 у больных с метастазами может показывать изменения в регуляции активированных лимфоцитов. При этом уровень полноразмерной формы мРНК в крови больных РТК без метастазов был в 1,3 раза ($p < 0,05$) выше, а альтернативной – в 1,5 раза ($p < 0,05$) ниже, чем у здоровых доноров. Однако уровень альтернативной формы мРНК в крови больных с метастазами статистически

не отличался от нормы, в то время как уровень полноразмерной формы был повышен в 1,9 раза ($p < 0,05$).

Заключение. Уровень обеих форм мРНК гена *CD38* в периферической крови больных РТК с метастазами выше, чем в периферической крови больных без метастазов. Таким образом, уровень мРНК гена *CD38* может быть использован в качестве дополнительного прогностического маркера при РТК. Кроме того, мРНК гена *CD38* может стать индикатором наличия метастатических клеток в организме больного.

А.А. Петкевич, С.А. Кузнецов, И.Ж. Шубина, М.В. Киселевский

НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ АДЪЮВАНТНОЙ АДАПТИВНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Современные методы адаптивной иммунотерапии рака основаны на использовании лимфоцитов, активированных интерлейкином-2 или другими цитокинами, а также вакцин, разработанных, с применением дендритных клеток. Особое внимание в последнее время привлекают иммунные чекпоинты – молекулы, участвующие в качестве триггерных механизмов активации лимфоцитов. В настоящее время проходят клинические испытания препараты ипилимумаб (блокатор гена *CTLA4*) и ниволумаб (блокатор рецептора PD1). В процессе применения новых средств иммунотерапии необходимо проводить постоянный контроль за показателями гуморального и клеточного иммунитета. На 1-м этапе мы ограничились изучением характеристики субпопуляций лимфоцитов периферической крови и лимфатических узлов (ЛУ) больных раком яичника, меланомой и немелкоклеточным раком легкого.

Цель исследования – определение иммунофенотипа мононуклеарных клеток (МНК) периферической крови и ЛУ больных раком яичника, меланомой и немелкоклеточного рака легкого.

Материалы и методы. Определение иммунофенотипа МНК проводили с помощью моноклональных антител против соответствующих антигенов, конъюгированных с флуоресцентными красителями FITC, PE или PAC: CD3, CD8, CD4, CD56, CD25, CD16. Цитометрические измерения осуществляли на проточном цитофлуориметре.

Результаты. В группе МНК распределение субпопуляций клеток было следующим: $CD3^+$ – 18,8–74,9 % от общего пула исследуемых клеток; $CD4^+$ – 9,4–64,0 %, $CD3^+/CD8^+$ – 4–30 %, $CD4^+/CD25^+$ – 0–2 %, $CD16^+/CD56^+$ – 0–20 %. В ЛУ субпопуляции распределились следующим образом: $CD16^+/CD56^+$ – 0–0,8 %, $CD4^+$ – 13,4–55,3 %, $CD3^+/CD8^+$ – 3,8–14,1 %, $CD4^+/CD25^+$ – 0–12,9 %. Из представленных данных видно, что в ЛУ практически отсутствует субпопуляция клеток натуральных киллеров, среди МНК-пула эта субпопуляция также значительно снижена.

Заключение. Данные результаты позволяют предположить, что ЛУ могут служить источником эффекторных клеток, генерируемых для последующего использования в противоопухолевой иммунотерапии. Возможно, именно эти популяции лимфоцитов следует рассматривать как наиболее функционально активные источники для клеточной иммунотерапии.

Р.А. Петров, А.Г. Мажуга, Е.К. Белоглазкина, С.А. Петров, Е.Э. Ондар, Н.В. Зык

ДИЗАЙН И СИНТЕЗ ЛИГАНДОВ ASGP-РЕЦЕПТОРА НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНЫХ N-АЦЕТИЛ-ГАЛАКТОЗЫ

Химический факультет ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва

Введение. Гепатоцеллюлярная карцинома – наиболее распространенная опухоль печени, результат злокачественного перерождения гепатоцитов. Ежегодно в мире диагностируют более 600 тыс. случаев заболевания этим недугом. Перспективным направлением увеличения эффективности химиотерапии является адресная доставка лекарств в клетки печени при помощи ASGP-рецептора гепатоцитов, распознающего производные галактозы. Данный рецептор расположен только на поверхности клеток печени и селективно связывается с гидроксильными группами в 3-м и 4-м положениях галактозы. Внемембранная часть белка состоит из 3 субъединиц, каждая их которых связывается с галактозой.

Цель исследования – получение конъюгатов противоопухолевого лекарственного препарата доксорубицина с тканеспецифическими лигандами для направленной доставки препарата непосредственно в опухоль печени и их биологическое тестирование.

Материалы и методы. Все исходные реактивы являются коммерчески доступными. Полученные соединения охарактеризованы с помощью методов ^1H и ^{13}C ядерной магнитно-резонансной спектроскопии и высокоэффективной жидкостной хроматографии масс-спектрометрии.

Результаты. На данный момент нами были получены 8 новых высокоселективных лигандов, которые были исследованы на предмет связывания с рецептором. Выявлены наиболее активно связывающиеся соединения. Лиганды, показавшие наибольшую активность, планируется конъюгировать с противоопухолевым препаратом доксорубицином, а также ввести флуоресцентные метки для дальнейших исследований *in vitro*.

Заключение. Таким образом, нами был предложен перспективный метод оптимизации противоопухолевого соединения за счет его конъюгирования с высокоселективным лигандом. В результате работы были оптимизированы синтетические подходы к созданию лигандов ASGP-рецептора на основе производных N-ацетил-галактозы. На основе полученных данных об активности исследуемых соединений была установлена зависимость структура – активность; разработана процедура, позволяющая в экспериментах *in vitro* исследовать новые лиганды асиалогликопротеинового рецептора и конъюгаты на их основе.

Работа выполнена при поддержке РНФ (грант № 14-34-00017).

А.А. Пискунов, М.С. Аксенова, М.В. Лыков, Д.А. Потеряев

МОНОКЛОНАЛЬНОЕ АНТИТЕЛО, АНТАГОНИСТ ХЕМОКИНОВОГО РЕЦЕПТОРА CXCR4, СНИЖАЕТ МЕТАСТАЗИРОВАНИЕ ОПУХОЛИ И ПОВЫШАЕТ ИНФИЛЬТРАЦИЮ В ОПУХОЛЬ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ Т-ЛИМФОЦИТОВ *IN VIVO*

ООО «МБЦ «Генериум», Москва

Введение. Хемокиновый рецептор CXCR4 и его лиганд SDF-1 экспрессируются во многих типах рака. CXCR4 на опухолевых клетках направляет метастазирование к местам высокой экспрессии SDF-1. CXCR4/SDF-1 также действуют локально, паракринно и аутокринно, усиливая рост опухоли и воспалительную нагрузку. SDF-1, секретируемый опухолью и ее микроокружением, увеличивает выживаемость опухоли и модулирует трафик иммунных клеток в ее окружение. Поэтому CXCR4 является привлекательной мишенью для иммунотерапии рака с помощью антител. Основываясь на результатах партнерской компании Affitech AS, МБЦ «Генериум» ведет дальнейшую разработку и доклинические исследования антитела 9N10, антагониста CXCR4.

Цель исследования – доклиническая разработка полностью человеческого рекомбинантного антитела, ингибирующего CXCR4, и оценка его терапевтического потенциала по онкологическим показаниям.

Материалы и методы. Для создания изотипов IgG1 и IgG4 антитела 9N10 использовали стандартные методы молекулярного клонирования. Рекомбинантные антитела экспрессировались в клетках линии CHO. Антитела были выделены и очищены с помощью 2-стадийной хроматографии и диализа. Связывание антител с нативным CXCR4 определяли проточной цитометрией. Ингибирование внутриклеточного сигнального каскада CXCR4 оценивали измерением выброса внутриклеточного кальция в ответ на лиганд. Хемотаксис $CXCR4^+$ раковых клеток *in vitro* определялся в камерах Бойдена. Для определения терапевтического потенциала 9N10 *in vivo* использовались 2 модели: 1) экспериментальная сингенная модель метастазирования мышиной меланомы B16 при инъекции раковых клеток в хвостовую вену; б) мышиная сингенная ортотопическая опухоль молочной железы 4T1. Количество и тип клеток иммунной системы, инфильтрировавших в опухоль, оценивали методом многоканальной проточной цитометрии гомогенизированной опухоли при некропсии.

Результаты. Показано, что антитело 9N10 является высокоселективным ингибитором CXCR4, вытесняет его лиганд и блокирует его внутриклеточный сигнальный каскад. *In vitro* 9N10 блокирует миграцию (хемотаксис) нескольких видов раковых клеток (например, лимфомы CCRF-CEM и карциномы 4T1), не вызывая при этом апоптоз $CXCR4^+$-клеток. В мышиных сингенных раковых моделях монотерапия 9N10 уменьшает количество легочных метастазов $CXCR4^+$-меланомы B16 и увеличивает количество цитотоксических лимфоцитов, инфильтрирующих в опухоль молочной железы 4T1.

Заключение. Антитело 9N10 является перспективным кандидатом для дальнейших доклинических и возможных клинических испытаний в области иммунотерапии солидных опухолей. Ингибирование сигнального каскада CXCR4 с помощью 9N10 может иметь наибольший терапевтический эффект в комбинации с ингибиторами иммунного чекпойнта, поскольку блокирование CXCR4 усиливает проникновение цитотоксических Т-лимфоцитов в опухоль.

Л.В. Плотникова[1], А.М. Поляничко[2], М.В. Успенская[1], А.Д. Гарифуллин[3], С.В. Волошин[3]

ОСОБЕННОСТИ ИНФРАКРАСНЫХ СПЕКТРОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ

[1]ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский НИУ ИТМО»; Международный научно-исследовательский институт «Биоинженерия», Санкт-Петербург;
[2]ФГБОУ ВО СПбГУ, Санкт-Петербург;
[3]ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА», Санкт-Петербург

Введение. Множественная миелома (ММ) составляет около 1 % всех злокачественных новообразований и чуть более 10 % гемобластозов. Наиболее частым симптомом ММ являются боли в костях, которые отмечаются более чем у 60 % пациентов на момент диагностики. Одним из критериев диагностики и оценки эффективности лечения больных ММ является определение уровня патологического белка в сыворотке крови и/или моче. Примерно у 80 % больных ММ методом электрофоретического анализа белков сыворотки крови можно выявить одиночный узкий пик или локализованную полосу (М-компонент) патологического белка, который вырабатывается клональными плазматическими клетками. При этом в сыворотке крови развивается выраженная диспротеинемия. Гипогаммаглобулинемия присутствует только в 10 % случаев ММ, в то время как у оставшихся 90 % пациентов имеются более сложные нарушения соотношения белков сыворотки крови.

Материалы и методы. В нашем исследовании мы применили комбинацию электрофоретического разделения, спектральных подходов и термального анализа для выявления ключевых различий в белковом составе сыворотки крови, ее термального поведения и вторичной структуры белков для образцов, полученных из сыворотки крови больных ММ и здоровых доноров.

Результаты. На сегодняшний день, молекулярные механизмы возникновения болезни остаются слабо изученными. Среди новых и потенциально перспективных подходов к лечению ММ особый интерес представляют направления, основанные на изменениях структуры белков и нарушении процессов фолдинга белков в клональных плазматических клетках. В данной работе методами электрофореза высокого разрешения, рефрактометрии и инфракрасной спектроскопии мы провели сравнительный анализ вторичной структуры белков в составе плазмы крови у пациентов с ММ и здоровых доноров. Анализ полученных данных показывает, что по сравнению с образцами сыворотки крови здоровых доноров в пробах ММ-IgG в структуре белков сыворотки крови наблюдается уменьшение доли α-спиральных участков в среднем на 15–20 %. Уменьшение степени α-спиральности сопровождается также повышением количества межмолекулярных β-слоев в среднем на 10–15 %. Иная картина наблюдается для образца ММ–IgA. В этом случае среднее содержание основных элементов вторичной структуры в белках сыворотки крови близко к таковому в образцах, полученных от здоровых доноров. Увеличение доли межмолекулярных β-слоев в структуре белков сыворотки крови больных ММ-IgG свидетельст-

вует об увеличении роли межмолекулярных белок-белковых взаимодействий, стабилизирующихся за счет формирования межмолекулярных β-структур.

Заключение. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что избыток тяжелых или легких цепей в сыворотке крови приводит к их взаимодействию между собой, что проявляется в спектрах как увеличение доли межмолекулярных β-структур. Однако данные инфракрасной спектроскопии не дают прямого ответа на вопрос о том, взаимодействуют ли «избыточные» моноклональные белки только между собой или же они могут также связываться с полноразмерными иммуноглобулинами. Мы предполагаем, что имеют место оба типа взаимодействия.

С.А. Полозкова, В.А. Горбунова, Н.Ф. Орел, А.Е. Кузьминов, А.С. Одинцова, Г.С. Емельянова, А.А. Маркович

ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ТОКСИЧНОСТЬ КОМБИНАЦИИ АРАНОЗЫ С ДОКСОРУБИЦИНОМ ПРИ МЕТАСТАТИЧЕСКИХ НЕЙРОЭНДОКРИННЫХ НЕОПЛАЗИЯХ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Нейроэндокринные неоплазии (НЭН) – новообразования, которые происходят из клеток диффузной эндокринной системы и способны продуцировать различные биологически активные вещества. Ограниченный спектр эффективных и доступных препаратов для лечения метастатических форм, их невысокая эффективность и проблема переносимости диктуют необходимость поиска и изучения новых эффективных режимов химиотерапии.

Цель исследования – оценить эффективность и безопасность режима химиотерапии араноза + доксорубицин в 1–4-й линиях лечения метастатических НЭН различной локализации.

Материалы и методы. В исследование были включены 26 больных с метастатическими НЭН различной локализации (панкреатические НЭН – у 13 пациентов, непанкреатические – у 12 и НЭН без выявленного первичного очага – у 1) в возрасте от 23 до 76 лет (медиана 48 лет), получивших режим араноза 500 мг/м^2 внутривенно в 1-й и 2-й дни + доксорубицин 40 мг/м^2 внутривенно на 3-й день, каждые 3–4 нед. Высокодифференцированные нейроэндокринные опухоли (ВД НЭО) диагностированы у 21 пациента, низкодифференцированные нейроэндокринные карциномы (НД НЭК) – у 4 больных. В процессе исследования оценивали частоту объективного ответа (по шкале RECIST, версия 1.0), биохимический ответ (нормализация/снижение на 50 % и более уровня хромогранина А), медиану выживаемости без прогрессирования (по методу Каплана – Майера) и токсичность (шкала NCI–CTCAE, версия 3.0).

Результаты. Суммарно 26 больным было проведено 163 курса химиотерапии. Объективный ответ зарегистрирован у 19 % (5/26) пациентов, из них у 4 больных диагностированы ВД НЭО поджелудочной железы и у 1 – НД НЭК тимуса; стабилизация опухолевого процесса – у 69 % (18/26); прогрессирование – у 12 % (3/26). У 63 % (12/19) пациентов зафиксирован биохимический ответ. Отдаленные результаты лечения оценены у 23 больных, у 3 проследить течение заболевания не удалось. Медиана выживаемости без прогрессирования составила 15 мес (95 % доверительный интервал 4,3–24). Из побочных явлений чаще всего отмечалась гематологическая токсичность – преимущественно I и II степени. Токсичность III–IV степени наблюдалась у 8 пациентов: тромбоцитопения – у 1, нейтропения – у 4, лейкопения – у 2 и гипербилирубинемия – у 1.

Заключение. Применение режима араноза + доксорубицин при метастатических НЭН обеспечивает хороший контроль над ростом опухоли (88 %) и не сопровождается выраженной клинически значимой токсичностью.

Н.В. Полуконова[1], Н.А. Наволокин[1], Д.А. Мудрак[1], А.И. Прилепский[2], А.А. Широков[2], А.Б. Бучарская[1], Г.Н. Маслякова[1]

ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТА АВРАНА ЛЕКАРСТВЕННОГО И КВЕРЦЕТИНА НА КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЕ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

[1]ГБОУ ВПО «СГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов;
[2]ФГБУН ИБФРМ РАН, Саратов

Цель исследования – сравнить цитотоксическую активность экстракта аврана лекарственного и отдельно входящего в его состав кверцетина в экспериментах *in vitro*.

Материалы и методы. Для исследования использован флавоноидсодержащий экстракт из сырья аврана лекарственного, полученный разработанным нами способом, химический состав которого описан ранее (количество кверцетина в сухом остатке экстрактивных веществ (получаемого из 10 г сухой травы аврана), установленное методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, составило не менее 350 мкг). Исследование проводили на клеточной культуре рака шейки матки HeLa из криобанка коллекции клеточных культур Института цитологии РАН. Культивирование выполняли в пластиковых флаконах в среде RPMI-4 (10 % эмбриональной сыворотки, гентамицин, ампициллин, амфотерицин). Эксперименты проводили в культуральных планшетах. Контролем служили клетки в питательной среде без добавления экстракта, выросшие в течение суток. Анализировали следующие концентрации экстракта аврана: 24; 12; 6; 3; 1,5; 0,75; 0,375 мг/мл и кверцетина: 0,1584; 0,0792; 0,0396; 0,0198; 0,0099; 0,00495; 0,002475 мг/мл, соответствующие его содержанию в экстракте. В качестве красителя использовали йодистый пропидий, проникающий в клетки через поврежденные мембраны.

Результаты. При концентрации экстракта аврана 0,375 и 0,75 мг/мл процент погибших клеток достоверно увеличивается ($p < 0,005$) в 5–6 раз, а при дальнейшем увеличении концентрации в 2 раза (1,5 мг/мл) – в 11 раз. При минимальной из исследованных концентраций кверцетина (0,002475 мг/мл) процент погибших клеток достоверно меньше, чем в контрольной группе. С повышением концентрации кверцетина процент погибших клеток достоверно увеличивается в 2–4 раза.

Заключение. Таким образом, при низких концентрациях кверцетин проявляет протекторные свойства и уменьшает процент погибших клеток HeLa, при увеличении

концентрации с 0,0396 мг/мл процент погибших клеток увеличивается, не достигая при этом активности экстракта аврана. Следовательно, противоопухолевая активность экстракта аврана лекарственного, по-видимому, обусловлена не только содержанием в нем кверцетина. Необходимо проведение более детального анализа химического состава экстракта и дополнительных исследований по изучению противоопухолевой активности и других фракций, входящих в экстракт.

Н.В. Полуконова[1], А.Б. Бучарская[1], Н.А. Наволокин[1], М.А. Барышникова[2], Д.А. Хоченков[2], Э.Ш. Соломко[2], О.О. Рябая[2], Г.Н. Маслякова[1], А.Ю. Барышников[2], Б.Н. Хлебцов[3], Н.Г. Хлебцов[3]

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЗОЛОТЫХ НАНОСТЕРЖНЕЙ НА КЛЕТКИ КУЛЬТУРЫ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ SK-BR-3

[1]ГБОУ ВПО «СГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов;
[2]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;
[3]ФГБУН ИБФРМ РАН, Саратов

Введение. В ближайшем будущем золотые наночастицы могут стать эффективными терапевтическими агентами в лечении различных заболеваний, в том числе и онкологических. Важным условием применения в онкологии новых материалов, в частности золотых наностержней (ЗНС), является всестороннее изучение их влияния на опухолевые клетки.

Цель исследования – изучить влияние ЗНС через 24 ч в эксперименте на клеточной культуре рака молочной железы SK-BR-3.

Материалы и методы. В работе использовали раствор пегилированных ЗНС длиной 41 ± 8 нм и диаметром 10,2 ± 2 нм (концентрация золота 400 мкг/мл), синтезированных в лаборатории нанобиотехнологии ИБФРМ РАН. Использовали культуру опухолевых клеток человека – карциному молочной железы SK-BR-3. Анализировали клетки, окрашенные флуоресцентным красителем Hoechat, используя показатели: среднее число клеток в поле зрения, активность роста культуры, % клеток в митозе от общего числа, % клеток в апоптозе от общего числа, а также учитывали стадии митоза.

Результаты. В контроле клетки культуры карциномы молочной железы человека SK-BR-3 имели четко очерченное ядро, в ряде случаев встречались митозы на разных стадиях до 5 в полях зрения. При воздействии ЗНС через 24 ч в культуре не наблюдали изменения количества клеток по сравнению с контролем, что свидетельствует об отсутствии как цитотоксического, так и стимулирующего рост культуры эффекта. Вместе с тем если в контроле наблюдали клетки в состоянии деления на стадиях мета- и анафазы, то при воздействии ЗНС выявлены клетки только в состоянии ранней профазы или поздней телофазы, что свидетельствует о возможном цитостатическом эффекте. Появления клеток в состоянии апоптоза также не было обнаружено.

Заключение. Таким образом, пегилированные ЗНС *in vitro* не оказывали цитотоксического воздействия на клетки карциномы молочной железы SK-BR-3. Перспективно дальнейшее исследование противоопухолевой активности ЗНС при изменении условий и длительности эксперимента.

А.В. Пономарёв[1], А.Е. Бармашов[1], А.М. Дёмин[2], О.С. Бурова[1], Н.В. Голубцова[1], И.М. Лученко[1], М.А. Барышникова[1], В.П. Краснов[2]

МАГНИТНАЯ СЕПАРАЦИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СУПЕРПАРАМАГНИТНЫХ ЧАСТИЦ С АНТИТЕЛАМИ ICO406 К CD117

[1]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;
[2] [1]ФГБУН «ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН», Екатеринбург

Введение. CD117 (C-kit) – трансмембранный протоонкогенный белок, относящийся к тирозинкиназным рецепторам III типа. CD117 встречается на многих типах опухолей человека, в частности в злокачественных новообразованиях желудочно-кишечного тракта, почки, остеосаркоме, меланоме. Был разработан метод иммобилизации антител ICO406 на магнитные наночастицы (МНЧ) на основе Fe_3O_4 для магнитной сепарации $CD117^+$-популяций опухолевых клеток.

Цель исследования – подтвердить возможность использования синтезированных наноконъюгатов МНЧ и антител ICO406 для выделения $CD117^+$-клеток.

Материалы и методы. Конъюгацию МНЧ и ICO406 проводили при использовании 1-этил-3- (3-диметиламинопропил) карбодиимида в фосфатном буферном растворе (PBS). В результате были получены суспензии МНЧ в PBS (МНЧ-ICO406-1) и воде (МНЧ-ICO406-2). Для проверки полученных в работе МНЧ использовали $CD117^+$ клеточную линию меланомы человека mel Kor. К клеткам добавляли МНЧ-ICO406–1 и МНЧ-ICO406–2. Смесь переносили в колонку MS Column на штативе MACS MultiStand, вставленную в магнит MiniMACS (Miltenyi Biotec). В качестве контроля использовали клетки без частиц. После выхода раствора из колонки ее снимали с магнита и смывали задержавшиеся в ней клетки PBS. Производили подсчет клеток, прошедших через колонку с магнитом и задержавшихся в колонке.

Результаты. Маркер CD117 был экпрессирован на 94 % клеток линии mel Kor. При проведении магнитной сепарации клетки, инкубированные с частицами МНЧ-ICO406–1, вышли из колонки с магнитом в количестве 5,7 %, а клетки, инкубированные с частицами МНЧ-ICO406–2, вышли в количестве 9,86 %. Клетки без магнитных частиц вышли из колонки с магнитом в количестве 96,1 %. Частицы состава МНЧ-ICO406–1 проявили выраженную способность к связыванию, с их помощью удалось выделить 100 % $CD117^+$-клеток.

Заключение Суперпарамагнитные частицы, конъюгированные с антителами ICO406, позволяют выделять $CD117^+$-популяцию клеток меланомы с достаточно высоким выходом. Процент клеток, связавшихся с МНЧ, соответствует проценту клеток, имеющих на своей поверхности CD117. Данный факт свидетельствует о высоком качестве частиц с иммобилизованными антителами, а также о надежности и эффективности иммуномагнитной сепарации с ними.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 14-03-00146-а) и УрО РАН (№ 15-21-3-6).

А.В. Пономарёв[1], В.А. Мисюрин[1], Е.Н. Мисюрина[2], Е.С. Маврина[2], Е.Ю. Гришина[2], М.Н. Стрекова[2], О.С. Бурова[1], А.Н. Иншаков[1], О.Н. Солопова[1], И.С. Монин[1], М.Ю. Кичигина[1], М.А. Барышникова[1], Е.А. Османов[1], А.В. Мисюрин[1]

ПРИ БОЛЬШЕМ КОЛИЧЕСТВЕ КЛЕТОК С ФЕНОТИПОМ CD14$^+$HLA-DR$^{LOW/-}$ У ПЕРВИЧНЫХ БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ УВЕЛИЧИВАЕТСЯ КОЛИЧЕСТВО PRAME-ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ КЛЕТОК В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

[1]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;
[2]ГБУЗ ГКБ № 52 ДЗМ, Москва

Введение. В норме у большинства исследованных здоровых людей на поверхности 80–90 % клеток моноцитарного гейта наблюдается коэкспрессия CD14 и HLA-DR. При онкогематологических заболеваниях снижается количество моноцитов, экспрессирующих HLA-DR. Описана популяция миелоидных супрессоров с фенотипом CD14$^+$HLA-DR$^{low/-}$. Данные клетки подавляют противоопухолевый иммунитет, в связи с чем можно ожидать увеличения опухолевой массы у больных онкогематологическими заболеваниями. Известно, что для первичных больных множественной миеломой (ММ) характерно повышенное количество CD14$^+$HLA-DR$^{low/-}$ по сравнению со здоровыми донорами. Поскольку ММ является онкогематологическим заболеванием, у больных с данным диагнозом может наблюдаться экспрессия онкобелка PRAME.

Цель исследования – оценить количество CD14$^+$HLA-DR$^{low/-}$ и PRAME-экспрессирующих клеток у первичных больных ММ.

Материалы и методы. Количество CD14$^+$HLA-DR$^{low/-}$ и опухолевых клеток оценивали методом проточной цитофлуориметрии на цитометре FACSCanto II с помощью антител к HLA-DR, CD14 и PRAME. В качестве клинического материала использовали периферическую кровь 7 первичных больных ММ. Для сравнения исследовали кровь 5 здоровых доноров. Количество клеток с фенотипом миелоидных супрессоров оценивалось в моноцитарном гейте и представляло собой долю (в %) клеток с фенотипом CD14$^+$HLA-DR$^{low/-}$ среди CD14$^+$-клеток.

Результаты. Медиана количества клеток с фенотипом CD14$^+$HLA-DR$^{low/-}$ у здоровых доноров составила 5,1 %, а у первичных больных ММ – 22 %, что было статистически значимо больше, чем у здоровых доноров ($p = 0{,}0001$). Медиана уровня экспрессии белка PRAME в клетках здоровых доноров составила 0 %, у первичных больных ММ – 4,6 %, что указывает на присутствие опухолевых клеток в венозной крови больного. Наблюдалась положительная корреляция между количеством клеток с фенотипом CD14$^+$HLA-DR$^{low/-}$ и PRAME-экспрессирующих клеток (коэффициент корреляции 0,7622).

Заключение. Показано, что количество клеток с фенотипом CD14$^+$HLA-DR$^{low/-}$ повышено у первичных больных ММ. Так как эти клетки обладают способностью подавлять противоопухолевый иммунитет, мы ожидали увеличения количества опухолевых клеток. Действительно, при большем значении содержания клеток с экспрессией маркеров CD14$^+$HLA-DR$^{low/-}$ мы наблюдали большее количество PRAME-экспрессирующих клеток.

И.В. Понтелеева[1], Е.Н. Калиниченко[1], И.А. Цибульская[1], И.А. Искров[2], А.Л. Усс[2], И.Ю. Лендина[2]

ПРЕПАРАТ ДЕЦИТАБИН В ТЕРАПИИ ПАЦИЕНТОВ С МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

[1]Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь;
[2]УЗ ГКБ № 9, Минск, Республика Беларусь

Введение. Миелодиспластический синдром (МДС) – группа клональных заболеваний костного мозга (КМ), характеризующихся цитопенией в периферической крови, клональными хромосомными изменениями и высоким риском трансформации в острый лейкоз (ОЛ). Основными задачами терапии МДС являются улучшение клеточного состава крови, отсрочка прогрессирования заболевания (ПЗ) в ОЛ, снижение зависимости от гемотрансфузий, увеличение выживаемости. Терапия гипометилирующими агентами (децитабин, азацитидин) заняла прочные позиции в лечении МДС. В Институте биоорганической химии НАН Беларуси разработан генерический препарат Децитабин, являющийся аналогом оригинального препарата Дакоген® (Нидерланды).

Цель исследования – изучение эффективности и безопасности применения генерического препарата Децитабин в терапии пациентов с МДС.

Материалы и методы. Эффективность и безопасность Децитабина оценивали в многоцентровом клиническом исследовании. По состоянию на момент подготовки публикации в испытание включено 7 пациентов с впервые диагностированным МДС из групп промежуточного и высокого риска по шкале WPSS. Децитабин назначали в дозе 20 мг/м^2 внутривенно в течение 5 дней. Планировалось проведение терапии в объеме 4 курсов с последующей оценкой ответа. При достижении полной/частичной ремиссии (ПР/ЧР) применение Децитабина продолжали в прежнем режиме, в противном случае его отменяли. Результаты лечения оценивали по частоте гематологического улучшения (ГУ), костномозгового ответа, ПР, ЧР и ПЗ.

Результаты. На момент включения больных в исследование медиана возраста составила 58 (39–65) лет. Рефрактерная цитопения с мультилинейной дисплазией (0,3–0,4 % бластов в КМ) была установлена у 3 пациентов, рефрактерная анемия с избытком бластов-2 (10,2–16,2 % бластов в КМ) – у 4 больных. Испытуемые по возрасту и/или соматическому статусу не рассматривались в качестве кандидатов для высокодозной терапии либо трансплантации. Все пациенты получили 4 курса терапии Децитабином. После 4 курсов объективный ответ на терапию был получен у 6 из 7 пациентов, включая ЧР – у 2, костномозговую ремиссию – у 2, 1-ростковое ГУ – у 1 и 2-ростковое ГУ – у 1. На протяжении анализируемого периода у испытуемых не зарегистрировано случаев ПЗ. Наиболее частым нежелательным явлением III–IV степени была гематологическая токсичность; случаев негематологической токсичности выше II степени не выявлено.

Заключение. Согласно полученным предварительным данным терапия препаратом Децитабин (Институт биоорганической химии НАН Беларуси) характеризуется высокой клинической эффективностью у пациентов с МДС,

что клинически проявляется нормализацией лейкоцитарной формулы и снижением потребности в проведении гемотрансфузий.

П.Б. Попов

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ПЕРВИЧНОЙ МЕЛАНОМЫ

Специализированная клиника лазерной и фотодинамической терапии, Краснодар

Введение. Способность к эпителиально-мезенхимальному переходу стволовых клеток меланомы нелинейно нарастает с толщиной опухоли; таким образом, у 80 % пациентов без клинических метастазов присутствует скрытая гематогенная диссеминация. Широкое иссечение первичной опухоли устраняет ее ингибирующее влияние на рост микрометастазов и способствует манифестации последних. Становится очевидной несостоятельность хирургической концепции лечения первичной меланомы.

Цель исследования – сравнение эффективности фотодинамической терапии (ФДТ) и хирургического лечения при первичной меланоме.

Материалы и методы. ФДТ была проведена 340 пациентам с морфологически верифицированной первичной меланомой кожи Т1–4 по разработанной нами и используемой с 2004 г. оригинальной методике. Оценка результатов лечения проводилась путем сравнения с прогностически сопоставимыми группами пациентов, получивших хирургическое или комбинированное лечение. Общий период наблюдения за пациентами, вошедшими в исследование, составил 3–10 лет, в среднем 5–6 лет.

Результаты. Полной резорбции первичной опухоли удалось добиться у всех пациентов. Заживление дефекта происходило под струпом с образованием мягкого рубца. Пластика не требовалась даже на месте очень протяженных опухолей. Ни в одном случае не отмечено локального рецидива в области рубца, тогда как в группе сравнения локальные рецидивы наблюдались у 8 % пациентов. Пятилетняя выживаемость при толщине опухоли до 4 мм составила 91,0 %, в группе сравнения – 83,6 %; свыше 4 мм – 57 и 47,6 % соответственно. Десятилетняя выживаемость при толщине опухоли до 2 мм в группе наблюдения составила 91,6 %, в группе сравнения – 88,9 %; от 2 до 4 мм – 66,3 и 59,8 % соответственно; более 4 мм – 49,5 и 37,1 % соответственно.

Заключение. ФДТ при первичной недиссеминированной меланоме кожи является высокоэффективным методом лечения, предупреждающим развитие локальных рецидивов заболевания даже у пациентов с неблагоприятными морфологическими характеристиками первичной опухоли, что улучшает отдаленные результаты лечения. Более высокая результативность ФДТ в сравнении с хирургическим лечением связана с системным влиянием ФДТ на процессы диссеминации и метастазирования. В отличие от широкого иссечения, ФДТ не требует сложных методик пластического закрытия дефектов и позволяет проводить лечение в амбулаторном режиме, что положительно сказывается на качестве жизни пациентов и значительно снижает затраты на лечение и реабилитацию.

П.Б. Попов

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

Специализированная клиника лазерной и фотодинамической терапии, Краснодар

Введение. Актуальность органосохраняющего лечения рака шейки матки (РШМ) у нерожавших пациенток репродуктивного возраста не вызывает сомнений. В этом плане представляет интерес наш 10-летний опыт применения фотодинамической терапии (ФДТ) для лечения этого заболевания.

Цель исследования – оценить отдаленные результаты ФДТ при неинвазивном и инвазивном РШМ.

Материалы и методы. Всего за истекший период было пролечено 203 пациентки, из них 169 прослежено в течение 5–10 лет. В ходе подготовки к ФДТ опухоли были верифицированы. У 32 (18,9 %) пациенток выявлена инвертирующая кондилома с очагами *cancer in situ*. В остальных случаях был обнаружен инвазивный умеренно- и низкодифференцированный плоскоклеточный рак. Глубину инвазии оценивали по результатам биопсии и магнитно-резонансной томографии с контрастированием. В 107 (63,3 %) случаях поражение соответствовало стадии IA по FIGO, в 30 (17,8 %) – IB. ФДТ неглубоких опухолей проводили с использованием оригинальных насадок для шейки матки, позволяющих равномерно засвечивать наружную поверхность и цервикальный канал. При глубокой инвазии излучение лазера подводили на границу раздела опухоль/здоровая ткань интерстициально при помощи кварцевых и сапфировых игл-диффузоров. Подведенная энергия составила 150 Дж/см^2 границы раздела. В группе с высоким риском метастазирования кроме локальной ФДТ проводили курс непрямого фотодинамического лизиса. Контрольную кольпоскопию выполняли через 8 нед после ФДТ. В отдельных случаях, когда инвазия превышала 3 мм, осмотры проводили по индивидуальному графику. Все подозрительные участки подвергались биопсии.

Результаты. Полной регрессии опухоли удалось добиться у всех пациенток. У 2 (1,2 %) больных со сложной геометрией опухоли через 1 мес был выявлен рецидив, потребовавший повторного проведения ФДТ. У 37 (21,9 %) пациенток с персистенцией папилломавирусной инфекции через год потребовалась повторная ФДТ по поводу *de novo* возникшей дисплазии. Всем им была проведена ФДТ с положительным результатом. Прогрессирование в виде поражения лимфатических коллекторов имело место у 4 (2,4 %) пациенток с глубокой инвазией. Пятилетняя выживаемость составила 97,6 %.

Заключение. Разработанная нами медицинская технология ФДТ инвазивного РШМ позволяет сохранить фертильность и высокое качество жизни при высокой результативности лечения.

Е.А. Поттер, Е.В. Долгова, А.С. Проскурина, В.П. Николин, Н.А. Попова, Я.Р. Ефремов, О.С. Таранов, С.С. Богачев

РАЗРАБОТКА СТРАТЕГИИ ЭЛИМИНАЦИИ АСЦИТА НА МОДЕЛИ ОПУХОЛИ МЫШИ КРЕБС-2

ФГБНУ ИЦГ СО РАН, Новосибирск

Введение. Асцитная форма рака относится к неизлечимым заболеваниям и характеризует терминальную стадию

развития болезни. Определение терапевтического режима, при котором происходит эрадикация асцитного рака, приводящая к полному вылечиванию экспериментальных животных, позволит сделать качественный скачок в терапии рака.

Цель исследования – разработка режима синергичного противоракового действия цитостатика циклофосфана (ЦФ) и препарата двуцепочечной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), приводящего к полному вылечиванию экспериментальных животных от асцитной формы рака.

Материалы и методы. В качестве модельной опухоли была использована асцитная форма мышиной карциномы Кребс-2. Терапевтические агенты, применяемые для подбора эффективного режима терапии: цитостатик ЦФ, препараты фрагментированной двуцепочечной ДНК. Опробованы режимы многократного (1–12, 18–30 ч после введения ЦФ, ежечасно) и однократного (18 ч) введения препаратов двуцепочечной ДНК, а также одной и нескольких инъекций ЦФ. Животные получали препараты в виде внутрибрюшинных инъекций.

Результаты. В настоящей работе описывается стратегия полного вылечивания экспериментальных мышей от асцита Кребс-2. Общебиологические базовые положения стратегии: 1) стволовые инициирующие раковые клетки (СИРК) опухоли Кребс-2 способны интернализовать фрагменты экстраклеточной двуцепочечной ДНК естественным механизмом интернализации; 2) фрагменты двуцепочечной ДНК, доставленные во внутриклеточное пространство СИРК, при репарации межцепочечных сшивок интерферируют этот процесс таким образом, что СИРК или погибает, или лишается своего туморогенного статуса. Рассматривается регламент терапевтических процедур, приводящих к эрадикации асцита Кребс-2: 1) три повторные инъекции ЦФ в контрольные точки цикла репарации межцепочечных сшивок; 2) дополнительная обработка асцита в точку демаркации фаз репарации NER и HR (18 ч после каждого введения ЦФ) сложнокомпозиционным препаратом на основе двуцепочечной ДНК, одновременно интерферирующим процесс репарации NER и HR таким образом, что асцит теряет туморогенное начало; 3) терминальная обработка мышей ЦФ и препаратом двуцепочечной ДНК в указанном режиме в фазу апоптотической деструкции асцитных раковых клеток и синхронизации всех оставшихся интактными СИРК Кребс-2 в чувствительной для обработок G1-фазе клеточного цикла. В результате терминальной обработки разрушается любая возможность восстановления жизнеспособности раковых клеток, включая СИРК опухоли мыши Кребс-2.

Заключение. Таким образом, в предложенной работе охарактеризован режим полного вылечивания 50 % экспериментальных животных от неизлечимой и в высшей степени злокачественной асцитной формы рака Кребс-2.

И.Р. Просалкова, Ю.М. Букреев, Н.К. Власенкова, И.М. Лученко, В.В. Решетникова, И.Ж. Шубина, А.В. Сергеев

ИММУНОФАРМАКОКИНЕТИКА ПРИРОДНЫХ КАРОТИНОИДОВ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Каротиноиды (КР) кантаксантин (КС), ликопин (ЛП), бета-каротин (БК) широко представлены в растительном мире и имеют жизненно важное значение для млекопитающих. БК превращается в витамин А, тогда как, КТ и ЛП не являются предшественниками ретиноидов. Эти КР обладают антиканцерогенными, антимутагенными и другими свойствами, что служит поводом для создания на их основе лечебно-профилактических препаратов.

Цель исследования – изучение фармакокинетики и иммунофармакологии БК, КТ и ЛП.

Материалы и методы. Объектом исследования являлись лабораторные животные (линейные мыши, крысы, кролики, собаки и другие животные) и периферическая кровь людей: здоровых доноров-добровольцев и онкологических больных. Определение КР проводили с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии по ранее описанным методикам. Определение пролиферативной и цитотоксической активности лимфоцитов и перитонеальных макрофагов также было описано нами ранее. БК, КТ, и ЛП получены из различных коммерческих источников.

Результаты. Однократное пероральное введение БК, КТ и ЛП мышам и крысам в дозах 100 и 300 мг/кг приводило к резкому повышению уровня КР в плазме крови через 1,0–1,5 ч и постепенному падению через 48 ч. Аналогичные результаты получены после однократного введения КР кроликам, собакам и свиньям. Однократное введение КР практически не влияло на показатели гуморального и клеточного иммунитета. Курсовое введение КР в течение 10–12 дней мышам, крысам и собакам приводило к устойчивому 2–4-кратному повышению уровня КР в плазме крови и 2–3-кратному повышению уровня КР в ткани печени. Это сопровождалось усилением пролиферативной и цитотоксической активности спленоцитов и перитонеальных макрофагов. Прием БК в дозе 650, 250 и 100 мг здоровыми донорами и онкологическими больными приводил к резкому повышению БК в плазме крови через 24 ч и последующему снижению через 48 ч. Систематический ежедневный прием БК в дозе 30 мг в течение 2 нед сопровождался повышением уровня БК в плазме крови и усилением пролиферативной активности лимфоцитов периферической крови.

Заключение. БК, КТ и ЛП обладают хорошей биодоступностью у различных лабораторных животных и человека, а при курсовом введении могут положительно влиять на показатели гуморального и клеточного иммунитета.

В.А. Пурцхванидзе, Ю.Г. Симаков

ВОЗДЕЙСТВИЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ НА СПОРЫ ПАТОГЕННОГО ГРИБА У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

МЦВТ «ЛазерВита», Москва;
ФГБОУ ВО «МГУТУ им. К.Г. Разумовского», Москва

Введение. Согласно данным литературы у пациентов со злокачественными опухолями часто отмечаются заболевания, обусловленные оппортунистическими грибами, к которым, например, относится *Candida albicans*, вызывающая кандидоз. Основным фактором, способствующим развитию кандидоза, является заболевание организма, при котором условно-патогенные возбудители приобретают патогенные свойства. В организме при этом происходят паранеопластические процессы, первичные или вторичные

иммунодефицитные состояния, аутоиммунные процессы. Усугубляющим фактором выступает использование препаратов с иммуносупрессивной активностью – глюкокортикостеродов, цитостатиков, антибиотиков широкого спектра и др. У онкологических больных возникновение поверхностных форм кандидоза, видимо, связано с нарушением клеточного иммунитета.

Цель исследования – провести оценку воздействия фотодинамической терапии (ФДТ) на споры патогенных грибов в периферической крови у онкологических больных.

Материалы и методы. Анализ клеточных элементов периферической крови из пальца и наличие спор *Candida* осуществляли с помощью оптического комплекса и компьютерной программы «VideoZavr» на микропрепаратах типа «давленая капля», полученных от 15 больных раком шейки матки, почки, вульвы, молочной железы. У всех пациентов в периферической крови были обнаружены споры *Candida*. Затем больные проходили лечение методом ФДТ. Концентрация фотодитазина – 0,8–1,0 мкг/кг, доза лазерного облучения – 200–400 Дж/см^2. Анализ препаратов живой крови проводили до введения фотосенсибилизатора (ФС) фотодитазина, через 20 мин после проведения ФДТ, через 3 и 7 сут и спустя 2 и 4 нед.

Результаты. До проведения ФДТ у всех пациентов отмечалось наличие спор *Candida* в плазме крови. Через 20 мин после проведения ФДТ количество спор патогенного гриба стало уменьшаться. Через 3 и 7 сут и спустя 2 и 4 нед после ФДТ споры патогенного гриба в плазме крови у пациентов не определялись. Помимо подавления спор *Candida*, ФДТ активизирует фагоцитоз лейкоцитов, а структурная организация других клеточных элементов крови меняется так, что все указывает на повышение иммунитета.

Заключение. ФДТ с фотодитазином способствует подавлению спор патогенного гриба и укрепляет иммунный клеточный барьер, задерживающий переход спор *Candida* в кровеносные сосуды из других органов и тканей. Появляется возможность лечения кандидоза за счет использования ФДТ с ФС фотодитазином.

В.А. Пурцхванидзе, Ю.Г. Симаков

ВЛИЯНИЕ ФОТОДИТАЗИНА ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ НА АГРЕГАЦИЮ ЭРИТРОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

МЦВТ «ЛазерВита», Москва;
ФГБОУ ВО «МГУТУ им. К.Г. Разумовского», Москва

Введение. Обычно у больных со злокачественными опухолями из-за токсикоза в периферической крови наблюдается повышенная агрегация эритроцитов: сладж и образование «монетных столбиков». Это приводит к резкому сокращению рабочей поверхности эритроцитов и нарушению тканевого дыхания. Помимо этого, блокируются лейкоциты и подавляется клеточный иммунитет. Все это усугубляет здоровье больного. Сокращение количества эритроцитов в «монетном столбике» в 2–3 раза может происходить под влиянием синглетного кислорода, выделяемого при фотодинамической терапии (ФДТ).

Цель исследования – оценить воздействие фотосенсибилизатора (ФС) фотодитазина при проведении противоопухолевой ФДТ на снижение адгезии эритроцитов периферической крови у онкологических больных и выявить изменения оболочки эритроцитов, которые делают их более подвижными, как это наблюдается при внутривенном лазерном облучении крови (ВЛОК).

Материалы и методы. Анализ крови проводился на препаратах типа «давленая капля», полученных из пальца 12 больных раком шейки матки, почки, вульвы, молочной железы. Анализ осуществляли до введения фотодитазина, через 20 мин после введения ФС, через 20 мин после ФДТ, через 3 и 7 сут после ФДТ. Концентрация фотодитазина – 0,8–1,0 мкг/кг, доза лазерного облучения – 200–300 Дж/см^2. Оценку состояния живой капли крови осуществляли в реальном времени с помощью оптического комплекса и компьютерной программы «VideoZavr». С учетом разнообразия состояния эритроцитов у пациентов использовали полуколичественный анализ крови с обозначениями: наличие сладжированной крови (+), присутствие длинных «монетных столбиков» (++), появление столбиков, содержащих 3–5 эритроцитов (+++), полная дезагрегация эритроцитов до отдельных клеток (++++).

Результаты. До введения ФС у всех пациентов отмечали наличие сладжа и «монетных столбиков» эритроцитов, а у 2 больных – «монетные столбики» в виде сети. Через 20 мин после введения ФС в крови исчез сладж эритроцитов, а «монетные столбики» содержали по 5–7 эритроцитов. После ФДТ появились «монетные столбики» с 3–5 эритроцитами. Через 3 и 7 сут после ФДТ большая часть эритроцитов находилась в виде коротких «монетных столбиков» и отдельных клеток. После ФДТ и воздействия лазером на кровь, содержащую ФС, эритроциты приобретали гибкость, как после сеанса ВЛОК.

Заключение. ФС фотодитазин при введении до ФДТ способствует уменьшению адгезии эритроцитов в периферической крови, а после ФДТ это снижение продолжается. При этом эритроциты из-за появления гибкой оболочки становятся более подвижными, как после ВЛОК. Выявленные изменения эритроцитов после введения ФС и проведения ФДТ способствуют усилению тканевого дыхания и повышению клеточного иммунитета за счет деблокирования лейкоцитов.

Ю.А. Рагулин, В.Н. Галкин, М.А. Каплан, В.Н. Капинус, В.В. Петерс

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА ЛЕГКОГО

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ НМИРЦ Минздрава России, Обнинск

Введение. Рак легкого является одной из наиболее распространенных форм опухолей и ведущей причиной онкологической смертности у мужчин. Отдаленные результаты лечения местно-распространенного рака легкого остаются неудовлетворительными, поэтому необходимо внедрение новых методов, позволяющих увеличивать показатели выживаемости и качества жизни данной группы пациентов.

Цель исследования – оценка эффективности фотодинамической терапии (ФДТ) в лечении местно-распростра-

ненного рака легкого и ее роли при комбинировании с лучевой терапией (ЛТ).

Материалы и методы. В исследование включены 90 больных с морфологически верифицированным местнораспространенным немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ), которым проведено консервативное лечение в клинике МРНЦ им. А.Ф. Цыба. Все пациенты имели обтурационные вентиляционные нарушения, обусловленные опухолевым стенозом главного или долевого бронха. Эндоскопическая ФДТ с хлориновыми фотосенсибилизаторами была проведена 63 больным по методике: за 2 ч до эндобронхиальной процедуры внутривенно капельно вводили Фотолон в дозе 1,2–1,9 мг/кг или Фотодитазин в дозе 0,7–0,9 мг/кг. Для ФДТ использовали лазерные терапевтические установки, генерирующие излучение с длиной волны, соответствующей спектру поглощения фотосенсибилизатора, с выходной мощностью лазера 1,2–1,6 Вт, плотность энергии лазерного излучения 100–300 Дж/см^2.

Результаты. При бронхоскопии через 1 мес после ФДТ у 60,9 % больных выявлена полная регрессия экзофитного компонента опухоли, у 34,1 % отмечена частичная регрессия, у 5 % уменьшения опухоли не выявлено. Отдельно проведен сравнительный анализ влияния ФТД на отдаленные результаты лечения местно-распространенного рака легкого. Для этого у 26 больных III стадией НМРЛ, получивших ФДТ перед ЛТ (химиолучевой терапией), оценена общая выживаемость. В качестве сравнения использованы результаты лечения 27 пациентов с аналогичной распространенностью процесса, не получавших ФДТ. Медиана выживаемости больных III стадией НМРЛ в группе ФДТ + ЛТ составила 15,4 мес, в то время как в группе ЛТ – 13,2 мес. Одно-, 2- и 3-летняя выживаемость – 42,3; 37,0 и 15,4 % и 11,1; 7,7 и 3,7 % в группах соответственно. Анализ достоверно установленных причин смерти показал, что фатальное легочное кровотечение как на фоне прогрессирования заболевания, так и без него развилось у 9 (34,6 %) больных при сочетанном лечении (ФДТ + ЛТ), тогда как в контрольной группе данный исход был отмечен у 6 (22,0 %) больных.

Заключение. ФДТ удовлетворительно переносится, обладает высокой клинической эффективностью. Добавление ФДТ в терапевтические программы неоперабельного рака легкого позволяет улучшить результаты консервативного лечения.

А.А. Раджабов, В.А. Дербенев, Г.И. Исмаилов, А.М. Азимшоев, И.А. Морозенков, Г.Г. Газиев

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ В КОМПЛЕКСНОЙ ПОДГОТОВКЕ ГНОЙНЫХ РАН К ПЛАСТИЧЕСКИМ ОПЕРАЦИЯМ

ФГБУ ГНЦ ЛМ ФМБА России, Москва

Введение. Для лечения гнойных и ожоговых ран в настоящее время используется большое количество консервативных и оперативных методов. Однако при обширных, длительно не заживающих, хронических ранах восстановление кожных покровов является основополагающим этапом в закрытии раневого дефекта.

Цель исследования – улучшить подготовку гнойных ран различного генеза к пластическим операциям (аутодермапластике, наложению вторичных швов) путем комплексного применения хирургических, физических и физико-химических методов воздействия на раневой процесс в первую фазу заживления.

Материалы и методы. Было проведено обследование и лечение 189 больных с гнойно-некротическими ранами различной локализации и генеза, площадью свыше 35 см^2: 149 пациентов составили основную группу, 40 – контрольную. По этиологии зарегистрированы: раны после вскрытия флегмон и абсцессов, раны после иссечения карбункулов; посттравматические раны; гнойные раны после локальных ожогов. В контрольной группе у 40 больных выполняли традиционную хирургическую обработку гнойных ран мягких тканей, которая включала иссечение некротизированных, пропитанных гноем и нежизнеспособных тканей обычными инструментами с последующим местным лечением ран посредством наложения повязок с антисептиками или гидрофильными мазями: 1 % раствор йодопирона, мазь левомеколь, раствор хлоргексидина. Основную группу разделили на 2 подгруппы: в 1-й подгруппе у 39 пациентов после удаления наибольшего количества некротизированных тканей раневую поверхность обрабатывали сфокусированным и расфокусированным излучением углекислотного лазера «Ланцет 1», после чего продолжали местное лечение, аналогичное больным контрольной группы. Во 2-й подгруппе 110 пациентам после выполнения традиционной хирургической обработки на следующие сутки после операции выполняли фотодинамическую терапию с фотосенсибилизатором хлоринового ряда Фотодитазин. Вначале на рану наносили 0,5 % гель-пенетратор из расчета 1 мл на 10 см^2. После 90-минутной экспозиции проводили сеанс «засвечивания» раны излучением лазерного аппарата «Аткус-10» с длиной волны 661 ± 0,3 нм при плотности/мощности 0,5–1 Вт/см^2 в непрерывном режиме, с плотностью энергии 25–30 Дж/см^2.

Результаты. Средние сроки очищения ран от раневого детрита, время до появления грануляции и краевой эпителизации в основной группе были достоверно короче, чем в контрольной. Средние сроки готовности ран к выполнению пластических операций в 1-й подгруппе основной группы составили 5,4 ± 0,3 сут, во 2-й подгруппе – 4,4 ± 0,4 сут, в то время как в контрольной группе – 9,8 ± 0,9 сут. После очищения ран от некротизированных тканей, в фазе грануляции и краевой эпителизации у 57 больных выполнена аутодермопластика дерматомным методом, по Ревердена–Янович–Чайнского–Девиса или по Тирша–Фомина. Вторичные швы наложили 132 пациентам. У всех больных после наложения вторичных швов раны зажили без осложнений, после выполнения аутодермопластики приживление аутотрансплантатов составили более 90 %.

Заключение. Использование высокоэнергетического лазерного излучения и лазерной фотодинамической терапии в комплексной подготовке гнойных ран к пластическим операциям позволяет сократить сроки очищения и гранулирования раневой поверхности и тем самым выполнить пластическое закрытие ран в кратчайшие сроки.

М.Ю. Ревтович[1], Ю.П. Истомин[1], А.И. Шмак[1], П.М. Бычковский[2], Т.Л. Юркштович[2], С.О. Соломевич[2], Н.В. Голуб[2], Ф.Н. Капуцкий[2], Е.Н. Александрова[1]

ИНТРАПЕРИТОНЕАЛЬНАЯ ХИМИОТЕРАПИЯ ПОЛИМЕР-ИММОБИЛИЗОВАННОЙ ФОРМОЙ ПРОСПИДИНА АСЦИТНОЙ ГЕПАТОМЫ ЗАЙДЕЛА

[1]ГУ «РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова», агрогородок Лесной, Республика Беларусь;
[2]НИИ ФХП БГУ, Минск, Республика Беларусь

Введение. Диссеминация опухоли по брюшной полости рассматривается как распространенный, прогностически неблагоприятный опухолевый процесс. Применяемая на сегодняшний день интраперитонеальная химиотерапия характеризуется недостаточной эффективностью, поскольку не позволяет обеспечить пролонгацию противоопухолевой активности применяемых химиопрепаратов.

Цель исследования – изучить возможность применения макромолекулярной терапевтической системы фосфат декстрана (ФД) – проспидин (Пр) для лечения экспериментального канцероматоза на модели интраперитонеально перевитой асцитной гепатомы Зайдела.

Материалы и методы. Исследование специфической активности препаратов проведено на 110 белых беспородных крысах (масса тела 184 ± 7 г) с перевитой внутрибрюшинно гепатомой Зайдела (Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург). Препараты Пр в виде водных растворов и гидрогелей (в дозах от 250, 500, 750, 1000 мг/кг в пересчете на цитостатик) вводили крысам однократно внутрибрюшинно (в объеме 1,25 мл на 100 г массы тела животного). Кумулятивная выживаемость оценена по методу Каплана – Майера. Для оценки совместного влияния водного раствора Пр, его гидрогелевой формы и ФД на выживаемость использовался регрессионный анализ.

Результаты. При оценке кумулятивной выживаемости статистичеки значимые различия по сравнению с контролем были отмечены как для водных растворов Пр ($p_{\text{log-rank}} = 0{,}000216$), так и для гидрогелевых форм Пр ($p_{\text{log-rank}} = 0{,}000001$). Сравнительный анализ кумулятивной выживаемости в группах, пролеченных с использованием водных растворов Пр и эквивалентных по дозе Пр гидрогелевых форм, выявил преимущества использования последних, проявившиеся как увеличением выживаемости при сравнении ФД + Пр 250 мг/кг и Пр 250 мг/кг ($p_{\text{log-rank}} = 0{,}024$), так и тенденцией к увеличению выживаемости при сравнении ФД + Пр 500 мг/кг и Пр 500 мг/кг ($p_{\text{log-rank}} = 0{,}0671$) и ФД + Пр 750 мг/кг и Пр 750 мг/кг ($p_{\text{log-rank}} = 0{,}0802$). Различий в кумулятивной выживаемости при использовании ФД + Пр 1000 мг/кг и Пр 1000 мг/кг нами отмечено не было ($p_{\text{log-rank}} = 0{,}865$). При сравнительной оценке снижения относительного риска (ОР) наступления летального исхода при применении водных растворов Пр и гидрогелей отмечено статистически значимое снижение ОР при использовании ФД + Пр 250 мг/кг (5,60 (1,16–27,06), $p = 0{,}032$) и ФД + Пр 500 мг/кг (> 1000 (> 1000– > 1000), $p < 0{,}001$) и тенденция в снижении ОР при использовании ФД + Пр 750 мг/кг (3,12 (0,85–11,44), $p = 0{,}086$). Для дозы 1000 мг/кг эффект снижения ОР отсутствовал (1,12 (0,28–4,44), $p = 0{,}871$).

Заключение. Полученные экспериментальные данные о положительном влиянии гидрогелевой формы Пр на течение интраперитонеально перевитой гепатомы Зайдела свидетельствуют о возможности использования данного лекарственного средства при лечении диссеминированных поражений брюшины и для профилактики перитонеальной диссеминации у радикально оперированных пациентов.

М.Ю. Ревтович[1], П.М. Бычковский[2], Т.Л. Юркштович[2], Ю.П. Истомин[1], С.О. Соломевич[2], Н.В. Голуб[2], Ф.Н. Капуцкий[2], А.И. Шмак[1], Е.Н. Александрова[1]

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ВОДНОГО РАСТВОРА ЦИСПЛАТИНА И ЕГО ГИДРОГЕЛЕВОЙ ФОРМЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VIVO*

[1]ГУ «РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова», агрогородок Лесной, Республика Беларусь;
[2]НИИ ФХП БГУ, Минск, Республика Беларусь

Введение. Несмотря на достаточно большой опыт проведения интраперитонеальной химиотерапии в мире, вопросы пролонгации противоопухолевого действия химиопрепаратов, вводимых в брюшную полость, не решены окончательно. Одним из перспективных направлений является создание комбинированных препаратов на основе биодеградируемых гелей.

Цель исследования – оценить в сравнительном аспекте противоопухолевую активность водного раствора цисплатина (ЦП) и его гидрогелевой формы на модели асцитной гепатомы Зайдела.

Материалы и методы. Исследование специфической активности препаратов проведено на 56 белых беспородных крысах (масса тела 184 ± 7 г) с перевитой внутрибрюшинно гепатомой Зайдела (Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург). Препараты ЦП в форме водных растворов и в виде гидрогелей в комбинации с фосфатом декстрана (в дозах 3,0; 5,5; 8,0 мг/кг в пересчете на цитостатик) вводили крысам однократно внутрибрюшинно (1,25 мл на 100 г массы тела животного). Кумулятивная выживаемость оценена по методу Каплана – Майера. Для оценки снижения относительного риска (ОР) летального исхода от прогрессирования опухолевого процесса при применении исследуемых препаратов использовали непараметрическую модель пропорциональных рисков Кокса.

Результаты. Интраперитонеальное применение ЦП 3 мг/кг и его гидрогеля оказалось эквивалентным в плане влияния на выживаемость экспериментальных животных ($p_{\text{log-rank}} = 0{,}908$), что обусловлено медленным высвобождением ЦП из гидрогеля при данной концентрации ЦП. При сравнительной оценке кумулятивной выживаемости при использовании растворов ЦП и его гидрогелей 5,5 и 8,0 мг/кг отмечено увеличение выживаемости при использовании гидрогелей ($p_{\text{log-rank}} = 0{,}000729$ и $p_{\text{log-rank}} = 0{,}00433$ соответственно). Применение раствора ЦП 3,0 мг/кг привело к снижению ОР гибели животного от прогрессирования опухолевого процесса в сравнении с группой контроля в 8 раз (8,37 (95 % доверительный интервал (ДИ) 2,09–33,49), $p = 0{,}003$) и было эффективнее в сравнении с гидрогелем ЦП 3 мг/кг (ОР 0,29 (0,05–1,79), $p = 0{,}183$). Применение гидрогеля ЦП 5,5 мг/кг статистически значимо снижало риск гибели животного в 11,6 раза в сравнении с группой контроля (95 % ДИ

1,1–124,1) и было эффективнее раствора ЦП 5,5 мг/кг (ОР 1,10 (0,37–3,27), p = 0,861). Использование гидрогеля ЦП 8,0 мг/кг характеризовалось тенденцией влияния на риск наступления летального исхода от прогрессирования опухолевого процесса (ОР 4,88 (95 % ДИ 0,86–27,61), p = 0,07331), в то время как использование раствора ЦП 8,0 мг/кг не влияло на данный показатель (ОР 0,71 (0,25–2,05), p = 0,532).

Заключение. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют об ингибирующем эффекте исследованных гидрогелевых форм ЦП при их интраперитонеальном применении на рост и прогрессирование асцитной гепатомы Зайдела, что является основанием для продолжения исследований.

О.Ю. Рыбалкина[1, 2], Е.П. Зуева[1], Л.Н. Зибарева[2], А.А. Бадулина[2], Т.Г. Разина[1], Е.Н. Амосова[1], К.А. Лопатина[1, 2], Е.А. Сафонова[1], Е.П. Федорова[1]

ЭКДИСТЕРОИДЫ В ДОПОЛНИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ

[1]ФГБНУ «НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга», Томск;
[2]НИ ТГУ, Томск

Введение. Применение цитостатиков сопровождается высокой токсичностью в отношении активно пролиферирующих клеточных популяций организма, в частности системы гемопоэза, поэтому актуальным является поиск препаратов, снижающих токсические проявления специфического лечения и/или повышающих его эффективность. Перспективными в качестве средств дополнительной терапии опухолевых заболеваний могут быть экдистероидсодержащие лекарственные растения, ярким представителем которых является род *Silene*, обладающие широким спектром фармакологической активности и отсутствием токсичности.

Цель исследования – изучение влияния экстрактов *S. colpophylla* и *S. viridiflora* на развитие карциномы легких Льюис (Lewis lung carcinoma, LLC) у мышей и эффективность лечения циклофосфаном (ЦФ), оценка их действия на периферическую кровь на фоне цитостатической терапии.

Материалы и методы. LLC перевивали внутримышечно по 5×10^6 клеток. ЦФ вводили мышам однократно внутрибрюшинно в дозе 125 мг/кг на 10-е сутки развития опухоли. Экстракты *S. colpophylla* и *S. viridiflora*, предоставленные лабораторией фитохимии Сибирского ботанического сада НИ ТГУ, вводили *per os* в дозах 50 и 100 мг/кг в течение 12 сут. В конце эксперимента (21-е сутки) определяли массу опухоли, вычисляли процент торможения ее роста, частоту метастазирования, подсчитывали количество и площадь метастазов в легких. Показатели периферической крови на 3-и сутки после введения ЦФ определяли с помощью гематологического анализатора «Muchic 18vet» (Cormay, Франция). При обработке результатов использовали непараметрические критерии Вилкоксона, Манна – Уитни и углового преобразования Фишера.

Результаты. Обнаружено, что введение ЦФ оказало достоверное ингибирующее влияние на развитие метастазов. Добавление в схему лечения ЦФ экстракта *S. colpophylla* в дозах 50 и 100 мг/кг вызвало повышение противоопухолевого эффекта терапии, при этом торможение роста опухоли составило 49 и 46 % соответственно. Аналогичные эффекты наблюдались при сочетанном назначении мышам экстракта *S. viridiflora* в дозах 50 и 100 мг/кг с ЦФ. При оценке действия экстрактов на периферическую кровь обнаружено, что цитостатик оказал ингибирующее действие на клетки периферической крови мышей с LLC. Включение экстрактов в схему химиотерапии не изменило ингибирующего влияния ЦФ на клетки миелоидного и эритроидного ростков кроветворения, однако повысило содержание тромбоцитов в 2 раза в периферической крови животных с LLC ($p < 0,05$).

Заключение. Включение экстрактов *S. colpophylla* и *S. viridiflora* в схему химиотерапии приводит к повышению противоопухолевого действия ЦФ, а также препятствует развитию тромбоцитопении в периферической крови животных с LLC.

О.О. Рябая[1, 2], А.А. Малышева[1], А.В. Егорова[2], Ю.А. Хоченкова[1], Е.В. Степанова[1], Д.А. Хоченков[1]

ИНГИБИРОВАНИЕ АУТОФАГИИ ПОТЕНЦИРУЕТ ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ ТЕМОЗОЛОМИДА *IN VITRO* НА КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ МЕТАСТАТИЧЕСКОЙ МЕЛАНОМЫ

[1]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;
[2]ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Введение. В последние десятилетия большое внимание уделяется лечению метастатической меланомы (ММ) кожи, но несмотря на достигнутые успехи, прогноз течения болезни остается неблагоприятным (средняя выживаемость пациентов с ММ кожи в мире составляет 8–10 мес). Активно изучаются новые комбинации и пути лечения. Ингибирование процесса аутофагии, позволяющего опухолевым клеткам преодолевать неблагоприятные условия, во многих доклинических исследованиях показало положительный эффект на регрессию опухолей и увеличение продолжительности жизни пациентов.

Цель исследования – изучить влияние ингибиторов аутофагии (хлорокина (CQ) и LY-294002) на цитотоксичность темозоломида (TMZ) на клеточных линиях ММ кожи *in vitro*.

Материалы и методы. Были использованы клеточные линии ММ кожи, полученные от пациентов РОНЦ им. Н.Н. Блохина. Цитотоксичность оценивали МТТ-тестом, иммуноцитохимически, уровень апоптоза определяли методом двойного окрашивания аннексином V/пропидий йодидом с помощью проточной цитометрии. Исследование аутофагии проводили посредством вестерн-блоттинга и трансфекцией микро-рибонуклеиновой кислоты (миРНК) к белку Beclin 1 клеточных линий либо при использовании ингибиторов аутофагии CQ и LY-294002.

Результаты. Для исследования влияния CQ на цитотоксичность TMZ последний был взят в нетоксических концентрациях (100–200 мкМ). МТТ-тестом показано, что CQ усиливает действие TMZ, приводя к увеличению гибели клеток ММ в среднем на 20 %, клетки с мутацией в кодоне v600 гена *B-RAF* были более чувствительны к комбинации CQ и TMZ. Анализ запуска апоптоза после 24-часовой инкубации с препаратами показал, что уровень апоптоза не зависел от статуса гена *B-RAF*: TMZ (500 мкМ) в монорежиме вызывал гибель 3–8 % клеток. Однако под действием CQ возрастало количество апоптотических клеток до 17,5 ± 2,9 % у B-RAF^{v600} клеток, а у B-RAF^{wt} их уро-

вень практически не менялся (5,2 ± 3,0 %). Также комбинация CQ и TMZ увеличивала количество белка LC3B (маркера уровня аутофагосом) по сравнению с контролем и препаратами в монорежиме. Ингибирование аутофагии за счет миРНК снижало токсическое действие на клетки ММ самого CQ. Аналогичные данные были получены при добавлении ингибитора образования аутофагосом LY-294002. Стоит отметить, что при коинкубации клеток с 2 ингибиторами одновременно отмечали увеличение цитотоксичности TMZ: выживаемость клеток ММ уменьшалась с 80 до 30 %. Таким образом, можно предположить, что аутофагия предохраняет клетки от темозоломидиндуцированной цитотоксичности.

Заключение. Полученные результаты демонстрируют, что CQ и LY-294002 ингибируют аутофагию в клетках ММ и способствуют увеличению их химиочувствительности к TMZ. Данные комбинации можно считать перспективными, требующими дальнейшего изучения, в том числе в опытах *in vivo*.

Работа поддержана грантом РНФ № 14-35-00107 от 17.09.2014.

А.В. Савельева[1], Е.В. Кулигина[1], Е.Д. Чикова[2], В.В. Козлов[3], В.А. Рихтер[1], Д.В. Семенов[1]

ТРАНСКРИПТОМ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ КОМПЛЕКСОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

[1]ФГБУН ИХБФМ СО РАН, Новосибирск;
[2]ЦНМТ, Новосибирск;
[3]ГБУЗ НСО НОКОД, Новосибирск

Введение. Большинство клеток организма человека выделяют 3 основных типа внеклеточных циркулирующих комплексов: микровезикулы, экзосомы и свободные рибонуклеопротеиновые комплексы, каждый из которых несет характерный набор РНК, отличный от продуцирующих их клеток. РНК циркулирующих комплексов, высвободившиеся после интернализации, способны оказывать регуляторное воздействие на клетки-реципиенты, что указывает на их участие в процессах дистантного межклеточного взаимодействия и может быть использовано для оценки физиологического состояния организма. Бóльшая часть исследований транскриптома циркулирующих комплексов посвящены изучению микроРНК в составе экзосом и проведены для секретома культивируемых клеток человека.

Цель исследования – описание всего многообразия форм РНК в составе микровезикул, экзосом и рибонуклеопротеиновых комплексов плазмы крови человека методом высокопроизводительного секвенирования.

Материалы и методы. Экзосомы, микровезикулы и свободные рибонуклеопротеиновые комплексы были получены путем последовательного центрифугирования образцов плазмы крови здоровых доноров и пациентов с раком легкого (плоскоклеточный рак легкого и аденокарцинома) при 16000 и 160000 *g*. Суммарная РНК полученных субфракций плазмы крови (осадков мембранных частиц и финального супернатанта) и форменных элементов крови была выделена с помощью реагента Trizol и проанализирована методом массового параллельного секвенирования на платформе SOLiD 5500xl. Данные обрабатывали с использованием программного обеспечения Bowtie/Cufflinks путем последовательного выравнивания полученных последовательностей с последовательностями: митохондриальных транскриптов; транскрибируемых повторов человека; РНК человека из базы данных human RefSeq; генома человека версии hg19. Различия в представленности транскриптов в составе циркулирующих комплексов плазмы крови оценивали с помощью пакета программ Cuffdiff.

Результаты. Для каждой комплементарной ДНК библиотеки было получено ~ 14 млн экспериментальных последовательностей. Показано, что для мембранных частиц, осаждаемых при 160000 *g*, в сравнении с остальными субфракциями плазмы крови и клетками крови характерно обогащение фрагментами мРНК (такими как KRTAP10–5, TSHB, IK, PMP22, HOXB8, OR9Q2, UCHL3) и некодирующих РНК (RNU11, микроРНК). Для частиц, осаждаемых при 16000 *g*, показано повышенное содержание определенного набора форм микроРНК, малых ядрышковых РНК и vault РНК.

Заключение. В совокупности с данными литературы полученные результаты указывают на то, что исследованные типы циркулирующих комплексов плазмы крови человека отличаются не только определенным набором микроРНК, но и других классов РНК, представленных в клетке, что может быть использовано для разработки новых подходов к ранней диагностике и терапии заболеваний человека.

Работа поддержана грантом РФФИ № 16-04-01457.

Н.С. Сапрыкина[1], М.А. Барышникова[1], В.П. Краснов[2], В.М. Бухман[1], А.Ю. Барышников[1]

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ОРМУСТИНА НА РАЗВИВШИХСЯ ПЕРЕВИВАЕМЫХ ОПУХОЛЯХ МЫШЕЙ

[1]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;
[2]ФГБУН «ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН», Екатеринбург

Введение. Значительная доля онкологических пациентов – больные с распространенными формами опухолевого процесса, поэтому актуально расширение арсенала эффективных при таких стадиях заболевания средств химиотерапии. В ИОС им. И.Я. Постовского (УрО РАН, Екатеринбург) синтезировано новое соединение алкилнитрозокарбамоил, производное аминокислоты L-орнитина – Ормустин. В лаборатории разработки лекарственных форм НИИ ЭДиТО РОНЦ им. Н.Н. Блохина создана лекарственная форма «Ормустин, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций 125 мг».

Цель исследования – оценить влияние нового потенциального противоопухолевого препарата из класса нитрозомочевин Ормустина на рост развившихся перевиваемых опухолей мышей.

Материалы и методы. Противоопухолевое действие Ормустина изучали на мышах гибридах BDF1 (C57Bl/6*DBA/2) с подкожно привитыми опухолями различного гистогенеза: меланомой B16, меланомой B16 сублинии F10 (B16-F10), меланомой Клаудмана (M3), эпидермоидной карциномой легкого Льюис (LLC), раком легкого РЛ-67. При достижении среднего объема подкожного опухолевого узла ($V_{ср}$) ≈ 1000–2000 мм^3 (7–12-е сутки опыта) мышам вводили однократно внутривенно Ормустин в дозах 100–150 мг/кг.

Терапевтический эффект оценивали по стандартным критериям экспериментальной химиотерапии.

Результаты. Ормустин значительно и продолжительно ингибировал рост перевиваемых в далеко зашедшей стадии развития опухолей мышей. Наиболее чувствительными к действию препарата были меланомы. У мышей с меланомой В16 ($V_{ср}$ на начало лечения (8-е сутки) ≈ 1000 мм^3) Ормустин значительно и продолжительно (при оценке по $V_{ср}$ – на 52–88 %; при оценке по средней массе опухоли (на 21-е сутки) – на 48–58 %) ингибировал рост опухоли. Наиболее сильное и длительное дозозависимое ингибирующее действие Ормустин проявил при лечении мышей с меланомой В16-F10 ($V_{ср}$ при начале лечения на 7-е сутки ≈ 1000 мм^3). Препарат дозозависимо вызвал значительную регрессию опухоли (до полного исчезновения видимого подкожного узла у всех мышей в группе), однако затем рост опухолей возобновился. У мышей с меланомой М3 ($V_{ср}$ на начало лечения (12-е сутки) ≈ 1600 мм^3) Ормустин также вызывал замедление роста опухоли (на 52–61 %). При лечении животных с LLC ($V_{ср}$ на 11-е сутки ≈ 2000 мм^3) Ормустин дозозависимо и длительно ингибировал рост карциномы (на 64–84 %). Наиболее устойчив к действию препарата был РЛ-67 ($V_{ср}$ при начале лечения (9-е сутки) ≈ 900 мм^3). Ормустин кратковременно ингибировал (на 50–72 %) рост РЛ-67.

Заключение. Ормустин обладает высоким противоопухолевым эффектом в отношении перевиваемых в далеко зашедшей стадии развития опухолей различного гистогенеза.

Работа выполнена в рамках государственного контракта № 13411.1008799.13.163 от 12.07.2013 «Доклинические исследования противоопухолевого лекарственного средства класса нитрозомочевин».

К.Н. Саунина, Л.Н. Николаевич

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МТТ-ТЕСТА В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ХИМИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КЛОНОГЕННЫХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ЭПЕНДИМОМЫ ЧЕЛОВЕКА

ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Введение. Роль гетерогенности опухоли в прогрессии и лекарственной устойчивости злокачественных новообразований практически не учитывается в клинической практике как прогностический (связанный с исходом заболевания) или предиктивный (предсказывающий непосредственную эффективность химиотерапии) маркер. Хотя вопрос о терапии гетерогенных новообразований остается открытым, одним из подходов, позволяющих преодолеть проблему внутриопухолевой неоднородности и оценки индивидуальной чувствительности, является диагностика чувствительности клоногенных клеток к лекарственным средствам.

Цель исследования – изучить чувствительность клоногенных клеток эпендимомы человека к цисплатину.

Материалы и методы. Методом культивирования *in vitro* были выделены опухолевые клетки из фрагмента ткани эпендимомы (послеоперационный материал) в первичную культуру, а затем методом клонирования *in vitro* была выделена популяция опухолевых клоногенных клеток эпендимомы. Цитотоксичность цисплатина в дозах 50, 100, 200, 300, 350, 400, 450 и 500 мкг/мл (конечные дозы в лунках на порядок ниже соответственно) определяли с помощью МТТ-теста. После инкубации клеток с цисплатином (72 ч) в каждую лунку добавляли 10 мкл МТТ (бромида 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия) (5 мг/мл) и планшеты дополнительно инкубировали в течение 4 ч. Далее из планшетов удаляли среду и в каждую лунку добавляли по 150 мкл диметилсульфоксида для растворения образовавшихся кристаллов формазана. С помощью ридера для иммуноферментного анализа (ChemWell) определяли оптическую плотность при 505 нм.

Результаты. Сравнительный анализ выживаемости опухолевых клеток и клоногенных клеток эпендимомы показал, что при воздействии цисплатина в дозе 50 мкг/мл наблюдается высокая доля жизнеспособных клеток (63–64 %). По мере увеличения дозы цисплатина выживаемость клеток снижается в 2–3 раза. Эффективной дозой цисплатина для опухолевых клеток эпендимомы является доза 100 мкг/мл, а для клоногенных клеток – 100, 200 и 500 мкг/мл.

Заключение. В клинической практике для оценки чувствительности клоногенных клеток эпендимомы целесообразно использовать МТТ-тест с целью назначения химиотерапии больным после хирургического удаления опухоли головного мозга.

Е.А. Сафонова[1], К.А. Лопатина[1, 2], А.М. Гурьев[3], Е.П. Федорова[1], Т.Г. Разина[1] Е.П. Зуева[1]

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ И СНИЖЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ КОМБИНАЦИИ ЦИСПЛАТИНА И ЭТОПОЗИДА С ПОМОЩЬЮ ПОЛИСАХАРИДОВ *TUSSILAGO FARFARA L.*

[1]ФГБНУ «НИИ ФиРМ им. Е.Д. Гольдберга», Томск;
[2]НИ ТГУ, Томск;
[3]ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России, Томск

Введение. Комбинация противоопухолевых препаратов «цисплатин + этопозид» является стандартным режимом химиотерапии для пациентов с мелкоклеточным раком легкого. Полисахариды *Tussilago farfara L.* (мать-и-мачехи обыкновенной) повышают эффективность и снижают токсичность цитостатиков различного механизма действия при монотерапии (экспериментальные данные) и могут стать перспективными составляющими схем комбинированного лечения опухолей.

Цель исследования – изучение возможности снижения гематологической токсичности и повышения эффективности комбинации цисплатина и этопозида с помощью полисахаридов *Tussilago farfara L.*

Материалы и методы. Использованы мыши-самки линии С57Bl/6 с перевитой внутримышечно карциномой легких Льюис. Цисплатин и этопозид в дозах 2,5 и 5 мг/кг соответственно вводили внутрибрюшинно, 3-кратно на 10, 12 и 14-е сутки после перевивки, последовательно через 10–20 мин. Полисахариды *Tussilago farfara L.* мыши получали внутрибрюшинно, с 7-х суток после перевивки опухоли в дозе 20 мг/кг. Забор крови произведен на 1-е сутки после второго и третьего введения цитостатиков. Эффективность лечения оценивали, определяя массу опухоли, процент торможения ее роста, частоту метастазирования, количество и площадь метастазов в легких. Возможность

снижения гематологической токсичности оценивали по показателям периферической крови. Статистическую обработку данных проводили с использованием непараметрических критериев Вилкоксона–Манна–Уитни (U) и углового преобразования Фишера (φ).

Результаты. При добавлении в схему полихимиотерапии «цисплатин + этопозид» полисахаридов *Tussilago farfara L.* значимо снижалась масса опухоли, торможение роста опухоли составило 36 % против 25 % в группе животных, получавших только цитостатики. На 1-е сутки после 2-кратного введения цитостатиков у животных, получавших дополнительно полисахариды, установлено увеличение количества тромбоцитов, эритроцитов и показателя гемоглобина по сравнению с этими значениями в группе полихимиотерапии. Если 2-кратное введение противоопухолевых препаратов достоверно не влияло на количество гранулоцитов в периферической крови животных, то добавление в схему лечения полисахаридов приводило к увеличению этого показателя до уровня контроля. На 1-е сутки после 3-кратного введения цитостатиков под влиянием полисахаридов зафиксировано увеличение общего количества лейкоцитов, количества тромбоцитов, эритроцитов, лимфоцитов и гранулоцитов и показателя гемоглобина относительно этих значений в группе животных, получавших только полихимиотерапию.

Заключение. Проведенные эксперименты доказывают целесообразность включения полисахаридов *Tussilago farfara L.* в схему цитостатического лечения «цисплатин + этопозид» в целях повышения ее эффективности и снижения гематологической токсичности.

А.В. Семейкин[1], Е.Н. Карева[1], Т.А. Федотчева[1], А.С. Лунина[1], В.М. Ржезников[2], Н.Л. Шимановский[1]

АНТИПРОЛИФЕРАТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ПРОГЕСТИНА БУТЕРОЛА НА КЛЕТКИ ОПУХОЛИ ШЕЙКИ МАТКИ HELA

[1]ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва;
[2]ФГБУ ЭНЦ Минздрава России, Москва

Введение. Прогестины широко применяют для терапии рака эндометрия (медроксипрогестерон, мегестрол) и профилактики гормонозависимых гиперплазий тканей репродуктивного тракта женщины (медроксипрогестерон, прогестерон). Известные механизмы их действия включают подавление экспрессии эстрогеновых рецепторов (преимущественно типа α) в ткани-мишени. Недостаточная эффективность делает актуальным расширение спектра существующих препаратов этого класса.

Цель исследования – изучить влияние нового отечественного лиганда рецепторов прогестерона, 17α-ацетокси-3β-бутаноилокси-6-метил-прегна-4,6-диен-20-она (бутерола) и препаратов сравнения – прогестерона (Р4) и медроксипрогестерона ацетата (МПА) на жизнеспособность клеток рака шейки матки HeLa и экспрессию в них гена эстрогенового рецептора типа α (*ERα*).

Материалы и методы. Исследуемые соединения вносили в лунки плоскодонного 96-луночного планшета (Costar) с культурой HeLa до конечных концентраций 10^{-7}–10^{-5} М при сроке инкубации 7 сут. Пролиферацию клеток культуры оценивали при помощи МТТ-теста на планшетном фотометре «Униплан» («Пикон», Россия). Экспрессию мРНК ERα в клетках после инкубации в течение 7 сут оценивали методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с использованием амплификатора фирмы BioRad (США). Данные обрабатывали с использованием программ Microsoft Office Excel 2007 и GraphPad Prizm 5.0.

Результаты. Максимальное подавление пролиферации клеток культуры HeLa наблюдалось в присутствии бутерола (38,5–52,1 %). Бутерол достоверно (в среднем на 15,0–26,1 %) превосходил по антипролиферативной активности Р4 и МПА во всех концентрациях ($p < 0,05$). Суммируя данные по действию соединений во всех изученных концентрациях (10^{-7}–10^{-5} М), был построен ряд исследуемых веществ по убыванию антипролиферативной активности: бутерол > Р4 = МПА. Все соединения в концентрации 10^{-6} М вызывали снижение экспрессии гена *ERα* в клетках HeLa на 83,4–98,6 % ($p = 0,05$). Бутерол вызывал весьма значительное подавление экспрессии гена *ERα* (в среднем на 83,4 % относительно контроля), однако оно было достоверно меньше (в среднем на 10,3 %), чем аналогичный показатель для препаратов сравнения (МПА – на 94,1 %, Р4 – на 93,3 %), что указывает на возможность опосредования его цитостатического эффекта также влиянием на другие факторы роста и апоптоза.

Заключение. Отечественный прогестин бутерол превосходит прогестерон и МПА по антипролиферативной активности на клетках рака шейки матки человека и является перспективным соединением для дальнейшего изучения с целью получения нового эффективного препарата для гормонотерапии гиперпластических процессов тканей-мишеней репродуктивного тракта женщины.

А.В. Сергеев[1], Ю.М. Букреев[1], И.М. Лученко[1], В.В. Решетникова[1], Н.Ю. Соколов[2], И.Ж. Шубина[1]

ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ СРЕДСТВ ХИМИОПРОФИЛАКТИКИ РАКА

[1]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;
[2]ФГУ «ГВКГ им. Н.Н. Бурденко» Минобороны России, Москва

Введение. Предупреждение возникновения злокачественных новообразований является приоритетным направлением онкологии, и разработке средств химиопрофилактики рака (ХПР) уделяют все больше внимания. Полиеновые соединения (ПС) – ретиноиды, каротиноиды, убихинон и др. – обладают антиканцерогенными, антимутагенными и другими свойствами, которые позволяют рассматривать их в качестве потенциальных средств ХПР.

Цель исследования – изучение возможности создания средств ХПР на основе ПС, растительных экстрактов и микроэлементов.

Материалы и методы. Использованы ранее разработанные нами препараты: Каскатол (КС), Каскорутол, Коэнзим Q-10 плюс (КК) и др. Экстракты шиповника, эхинацеи и других растений получены по специальной технологии. Использованы органические соединения Mg, Zn и других элементов. Иммунологические методы оценки гуморального и клеточного иммунитета описаны нами ранее.

Результаты. Разработаны новые препараты Биоэнерготоник 01–03 (БЭ-1) и БЭ 01–05 (БЭ-2) на основе экс-

трактов шиповника, эхинацеи, аргината Mg, Zn и других микроэлементов. Разработаны лекарственная форма препаратов в твердых желатиновых капсулах, методы стандартизации и контроля качества, подготовлена и утверждена нормативно-техническая документация, осуществлен опытно-промышленный выпуск. В сравнительных исследованиях по иммунофармакологии БЭ-1 и БЭ-2 были на 30–40 % менее эффективны в стимуляции гуморального и клеточного иммунитета по сравнению с КС и КК. Систематическое ежедневное введение мышам BALB/c комбинации препаратов БЭ + КС или БЭ + КК было на 40–50 % более эффективно, чем использование только КС или КК. Комбинированное применение БЭ и КС эффективно снижало иммунодепрессию, индуцированную цитостатиком аранозой.

Заключение. Разработанные БЭ можно рассматривать в качестве перспективных потенциальных средств ХПР и рекомендовать их в комбинированном использовании с препаратами КС, КК и другими ПС.

Си Джан[1], Е.В. Санарова[2], М.В. Дмитриева[2], А.П. Полозкова[2], Н.А. Оборотова[1, 2], А.В. Ланцова[2], О.Л. Орлова[2], З.С. Шпрах[2]

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ НОВОГО АНАЛОГА ГИПОТАЛАМИЧЕСКОГО ГОРМОНА СОМАТОСТАТИНА, ОБЛАДАЮЩЕГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТЬЮ

[1]ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва;
[2]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. В лаборатории разработки лекарственных форм РОНЦ им. Н.Н. Блохина разработана модель липосомальной лекарственной формы (ЛЛФ) нового отечественного аналога гипоталамического гормона соматостатина (АГГС). Доказана эффективность данной ЛЛФ на перевиваемой опухоли мышей – аденокарциноме молочной железы Са-755: торможение роста опухоли при дозе 5 мг/кг составило более 60 %, при дозе 20 мг/кг – более 80 %, что указывает на перспективность дальнейших исследований модели ЛЛФ АГГС с целью получения высокоэффективного противоопухолевого препарата из группы аналогов соматостатина.

Цель исследования – разработка методики спектрофотометрического количественного определения содержания АГГС в ЛЛФ.

Материалы и методы. АГГС (РОНЦ им. Н.Н. Блохина); яичный фосфатидилхолин E PC S (Lipoid, Германия); холестерин (Sigma, Япония); PEG-2000-DSPE (Lipoid, Германия); сахароза («Химмед», Россия); спирт этиловый 95 % (ЗАО «Брынцалов-А» – «Ферейн», Россия). Спектрофотометрия в ультрафиолетовом спектре.

Результаты. Содержание АГГС в ЛЛФ определяли в интенсивном максимуме поглощения при длине волны 282 ± 3 нм. Установлено, что интенсивность поглощения спиртовых растворов ЛЛФ препарата в данном максимуме подчиняется закону Бугера – Ламберта – Бера в диапазоне концентраций от 0,02 до 0,2 мг/мл в пересчете на АГГС. Максимумы поглощения в растворах субстанции и лекарственной формы совпадают. При оценке влияния вспомогательных веществ ЛЛФ на спектральные характеристики действующего вещества обнаружено, что сахароза не поглощает в области 250–350 нм, в то время как компоненты липосомального бислоя (фосфатидилхолин, холестерин, PEG-2000-DSPE) в данной области имеют собственное значительное поглощение. Это обстоятельство следует учитывать при анализе, используя в качестве раствора сравнения раствор вспомогательных веществ с соответствующей концентрацией. Относительная ошибка определения АГГС в ЛЛФ не превышает 2,0 %, что указывает на высокую точность анализа с использованием разработанной методики.

Заключение. Разработанная методика может быть использована для количественного определения АГГС в ЛЛФ.

Л.Ю. Скляров, И.В. Назимов, Р.Х. Зиганшин, Н.Ю. Половков

СИНТЕЗ МУЛЬТИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

ФГБУН «ИБХ им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН», Москва;
ИНХС РАН, Москва

Введение. Природным кором (центральная часть разветвленной, дендримерной молекулы) белков и пептидов можно считать гетероциклические и ароматические соединения – порфирины, корины, пиридины, фенолы и ряд других конденсированных соединений, осуществляющих жизненно важные функции.

Цель исследования. Кором для синтеза мультиплетных пептидов послужили полифункциональные производные аминокислот и гетероциклы, полученные на основе реакции. Необычные физико-химические свойства образующихся полифункциональных гетероциклов – сильная флуоресценция и высокая реакционная способность боковых групп – были использованы как для синтеза порфиразинов и их дендримеров, так и для разработки аналитических методов.

Материалы и методы. В качестве исходных соединений для синтеза порфиразинов и их дендримеров использованы 3-амино-, 3-гидроксипиридины и 6-пептидилпиридины.

Результаты. Широкий спектр флуоресценции мультиплетных производных порфиразина (400–900 нм) позволил наблюдать связывание этих соединений с раковыми клеточными линиями методом проточной цитофлуориметрии. Показана возможность связывания полученных соединений с ионами щелочноземельных, тяжелых, платиновых металлов и способностью образовывать суспензию наночастиц с узким распределением по размерам.

Заключение. Относительно высокая реакционная способность нитрильных групп в получаемых гетероциклах позволяет рассматривать их как перспективные би- и полифункциональные флуоресцентные реагенты в синтезе аналогов противораковых препаратов, содержащих аминные и сульфгидрильные группы.

Е.Г. Славина, А.И. Черткова, М.Е. Абрамов, З.Г. Кадагидзе

РЕФНОТ – НОВЫЙ ИММУНОМОДУЛЯТОР В ОНКОЛОГИИ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Новый отечественный иммуномодулятор Рефнот является гибридной молекулой двух биологически

активных агентов – цитокина фактора некроза опухолей и гормона тимозина.

Цель исследования – изучить влияние Рефнота в сочетании с химиотерапией на основные показатели иммунитета у больных диссеминированной меланомой кожи на разных этапах лечения.

Материалы и методы. В исследование были включены пациенты с диссеминированной меланомой кожи, исчерпавшие возможности стандартного лекарственного лечения (n = 21). Контролем служили доноры без признаков онкологических заболеваний (n = 25). Все пациенты получали лечение по следующей схеме: Рефнот вводили в дозе 100 тыс. МЕ в 1–5-й дни подкожно (п/к) с 2-дневными перерывами в течение 2 нед или по 400 тыс. МЕ п/к 3 раза в неделю в течение 4 нед. Начиная с 3-й или 5-й недели проводили химиотерапию (дакарбазин 250 мг/м^2 внутривенно (в/в) струйно в 1–3-й дни, ломустин 80 мг/м^2 внутрь в 1-й день через 3 ч после дакарбазина, цисплатин 80 мг/м^2 в/в в 3-й день). Перерыв между курсами составлял 2 нед. Состояние иммунитета определяли до начала лечения, после 2–4 нед терапии Рефнотом (до химиотерапии, 1-й курс) и перед 2-м курсом химиоиммунотерапии. Иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови проводили с помощью многопараметрового цитометрического анализа с использованием панели моноклональных антител.

Результаты. До лечения у 47,6 % больных было снижено количество $CD3^+$ Т-лимфоцитов (55,9 ± 3,9 %) по сравнению с контролем (72,96 ± 4,9 %; p = 0,0000). В то же время у этой группы пациентов отмечалось значительное повышение исходного количества $CD3^-CD16^+CD56^+$ естественных киллерных клеток (24,0 ± 5,1 против 16,9 ± 6,5 % в контрольной группе; p = 0,004), а также снижение количества $CD8^+$ Т-лимфоцитов, экспрессирующих коактивационный рецептор CD28, и величины соотношения $CD8^+CD28^+/CD8^+CD28^-$ (0,36 ± 0,13; в контрольной группе 1,04; p = 0,009). Перед 2-м курсом лечения сниженное количество $CD3^+$ Т-клеток было выявлено лишь у 9,1 % пациентов, а также повысилось количество $CD3^+CD4^+$ (с 36,7 ± 4,4 до 43,6 ± 3,4 %; p = 0,048) и сниженное до лечения количество $CD3^+CD8^+$ Т-лимфоцитов. Повышенный у этих пациентов до лечения процент $CD3^-CD16^+CD56^+$ естественных киллерных клеток (23,7 ± 5,1 %) по сравнению с контролем (10,7 ± 5,7 %, p = 0,0006; 16,9 ± 6,5 %, p = 0,004) после 2–4 нед терапии Рефнотом снизился до уровня контроля. В то же время отмечалась тенденция к росту их цитотоксической активности. У этих больных повысилось также сниженное количество $CD8^+CD28^+$-Т-лимфоцитов и в 2 раза возросло соотношение $CD8^+CD28^+/CD8^+CD28^-$. Это может указывать на повышение цитотоксического потенциала естественных киллеров под влиянием химиоиммунотерапии с включением Рефнота.

Заключение. Полученные в настоящем исследовании результаты подтвердили способность Рефнота оказывать положительное влияние на основные показатели противоопухолевого иммунитета у онкологических больных с поздними стадиями заболевания, исчерпавшими возможности стандартного лекарственного лечения.

Е.Г. Славина, А.И. Черткова, Л.Г. Жукова, М.А. Окружнова, Э.К. Шоуа, А.А. Борунова, З.Г. Кадагидзе

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ КОЛИЧЕСТВОМ РЕГУЛЯТОРНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ И КЛИНИЧЕСКИМ ЭФФЕКТОМ ХИМИОТЕРАПИИ ПРИ ТРИЖДЫ НЕГАТИВНОМ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Эффективность противоопухолевой терапии во многих случаях зависит от состояния иммунной системы пациента, а определенные популяции иммунокомпетентных клеток связывают с прогнозом заболевания.

Цель исследования – изучение связи между исходным количеством основных популяций лимфоцитов периферической крови и результатами химиотерапии (ХТ) больных местно-распространенным трижды негативным раком молочной железы (ТН РМЖ).

Материалы и методы. В исследование были включены 32 пациентки с ТН РМЖ. Контролем служили здоровые женщины (n = 26). После ХТ (цисплатин + паклитаксел) больные получали оперативное лечение. До начала ХТ проводилось иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови методом проточной цитометрии. Определяли количество следующих популяций лимфоцитов: ($CD3^+$, $CD3^+CD4^+$, $CD3^+CD8^+$, $CD8^+CD28^+$, $CD8^+CD28^-$, $CD3^+HLA\text{-}DR^+$, $CD3^+CD38^+$, $CD4^+CD25^+$)Т-; В-; ($CD3^+CD16^+CD56^+$) NKT-; NK- и ($CD4^+CD25^+FOXP3^+$) регуляторных Т-клеток ($T_{рег}$). В соответствии с эффективностью проведенного лечения пациентки были разделены на 2 группы: без прогрессирования (группа А, n = 25) и с прогрессированием заболевания (группа Б, n = 7).

Результаты. Проведенное исследование показало, что различия между группами главным образом касались регуляторных популяций лимфоцитов. Так у больных в группе А количество $T_{рег}$ было выше, чем в группе Б и в контроле (1,27 ± 0,92; 0,9 ± 0,54 и 0,64 ± 65 соответственно; p = 0,005). Величина соотношения $CD8^+CD28^+/CD8^+CD28^-$ Т-клеток ($CD8^+CD28^-$ Т-клетки во многих исследованиях рассматриваются как супрессорная популяция) в группе А была статистически значимо ниже, чем в группе Б (0,6 ± 0,4 и 1,2 ± 0,78 соответственно; p = 0,047), и ниже, чем в контрольной группе (1,13 ± 0,92; p = 0,045). Уникальную роль в регуляции иммунного ответа играют NKT-клетки. Они могут и стимулировать, и подавлять противоопухолевый иммунный ответ. У больных в группе А исходное количество NKT-клеток было более чем в 2 раза выше, чем в группе Б (13,3 ± 5,5 и 5,6 ± 3,0 соответственно; p = 0,002), и выше, чем в контрольной группе (9,9 ± 6,0; p = 0,046). Логистический регрессионный анализ выявил значимую отрицательную связь между эффектом лечения и величиной соотношения $CD8^+CD28^+/CD8^+CD28^-$ (b_i = –1,67; p = 0,039) и значимую положительную связь с количеством NKT-клеток (b_i = 0,43; p = 0,016).

Заключение. Полученные результаты позволяют предположить существование взаимосвязи между исходным количеством регуляторных популяций лимфоцитов периферической крови и эффективностью проведенной ХТ при ТН РМЖ. Определение иммунологических маркеров, коррелирующих с течением болезни и клинической эф-

фективностью лечения, поможет разработать индивидуальные подходы к терапии пациентов с различными формами злокачественных новообразований и прогнозировать успех лечения.

Г.Б. Смирнова[1], С.А. Цуркан[2], Ю.А. Борисова[1], Е.М. Трещалина[1]

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА АИМПИЛА НА ПОДКОЖНЫХ КСЕНОГРАФТАХ ОПУХОЛЕЙ ЧЕЛОВЕКА

[1]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва; [2]ООО «ФармАксесс», Москва

Введение. Препарат Аимпила представляет собой запатентованный в России пероральный нековалентный комплекс, состоящий из транспортного белка α-фетопротеина (АФП) и известного индуктора апоптоза. Показано ранее, что препарат неактивен *in vitro* и *in vivo* на опухолевых моделях, не экспрессирующих рецепторы АФП (*receptor alfa fetoprotein,* ReCAF). Действие препарата Аимпила на рост ReCAF-экспрессирующих опухолей человека ранее не изучали.

Цель исследования – экспериментальное изучение препарата Аимпила на рост подкожных ксенографтов ReCAF-экспрессирующих опухолей человека.

Задачи исследования: 1) оценка эффективности препарата Аимпила при многократном пероральном введении на подкожных ксенографтах с различной экспрессией ReCAF; 2) определение терапевтического диапазона доз на наиболее чувствительном штамме опухоли.

Материалы и методы. Препарат Аимпила в виде водного раствора гранулята (50 мг/мл) для капсулирования получали от разработчика ООО «ФармАксесс» (Россия). Исследования проведены на 3 штаммах подкожных ксенографтов опухолей человека с определенными нами рецепторами (см. тезисы в данном журнале): раке ободочной кишки SW620/ReCAF^{+}, раке печени HepG2/ ReCAF^{++} и раке молочной железы T47D/ReCAF^{+++}. Препарат Аимпила вводили в желудок металлическим зондом 5–10 раз ежедневно в диапазоне суммарных доз от 1,0 до 4,0 мг/кг. Контроль роста опухоли в динамике выполнен в адекватной схеме. Эффективность оценена по стандартному показателю в сравнении с контролем ($T/C_{max} < 42$ %). Достоверность полученных данных рассчитана с помощью компьютерной программы Exel для Windows 2010 ($p < 0,05$).

Результаты. Показано, что препарат Аимпила при многократном пероральном введении ингибирует рост всех изученных подкожных ксенографтов в зависимости от экспрессии ReCAF. Чувствительность опухолей возрастает в ряду T/C = 70 % < 51 % < 22 %, что сопряжено с увеличением уровня экспрессии рецептора SW620/ReCAF^{+} < HepG2/ReCAF^{++} < T47D/ReCAF^{+++}. На наиболее чувствительной T47D/ReCAF^{+++} показано, что оптимальным терапевтическим режимом является 5-кратное ежедневное введение препарата Аимпила в разовой дозе 0,2 мг/кг (суммарная доза 1,0 мг/кг). В этом режиме на T47D/ReCAF^{+++} достигается значимый достоверный воспроизводимый в серии опытов ингибирующий эффект на уровне T/C = 22–37 % ($p < 0,05$) с морфологической верификацией гибели большинства опухолевых клеток через механизм апоптоза. Переносимость лечения при всех исследуемых режимах была удовлетворительной.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют в пользу рецептор-опосредованного действия препарата Аимпила на солидные опухоли человека и дают основание для изучения специфичности связывания препарата с рецепторами АФП.

Л.И. Смирнова, Л.П. Сушинина, С.В. Устинкина, В.Н. Осипов

ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ АНАЛОГИ ЦИФЕТРЕЛИНА

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Цифетрелин синтезирован в лаборатории химического синтеза РОНЦ им. Н.Н. Блохина, успешно прошел доклинические исследования и разрешен к клиническому изучению. В основу настоящей работы положена идея об использовании Цифетрелина в качестве специфического носителя цитотоксических групп. Адресная доставка цитотоксических агентов к опухолям с помощью специфических носителей позволяет увеличить активность, снизить токсичность и тем самым улучшить результаты лечения.

Цель исследования – синтез 2 цитотоксических аналогов Цифетрелина.

Материалы и методы. Синтез пептидов осуществляли классическими методами пептидной химии. При синтезе фрагментов пептидов использовали метод смешанных ангидридов. Для защиты а-аминогрупп на всех стадиях синтеза применяли трет-бутилоксикарбонильную группу. Карбоксильную группу С-концевого аминокислотного остатка треонина защищали этерификацией (метиловый эфир). Для защиты реакционноспособных групп боковых цепей лизина и цистеина использовали бензилоксикарбонильную и тетрагидропиранильную группы. Очистку и количественное определение основных веществ проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Результаты. Синтез аналогов Цифетрелина: Boc-Cys-(Thp)-Phe-D-Trp-Lys(ClPhe)-Thr-OMe – метилового эфира N$^{\alpha}$-трет-бутил-оксикарбонил-S-тетрагидропиранил-цистеинил-фенилаланил-D-триптофил-N$^{\varepsilon}$-п-ди(2-хлорэтил)-аминофенилацетил-лизилтреонина (соединение 1) и ClPhe-Cys(Thp)-Phe-D-Trp-Lys(Z)-Thr-OMe – метилового эфира N$^{\alpha}$-п-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетил-S-тетрагидропиранил-цистеинилфенилаланил-D-триптофил-N$^{\varepsilon}$-карбобензокси-лизилтреонина (соединение 2) до получения тетрапептида Boc-Phe-D-Trp-Lys (Z)-Thr-OMe – метилового эфира N$^{\alpha}$-трет-бутилоксикарбонил-фенилаланил-D-триптофил-N$^{\varepsilon}$-карбобензокси-лизилтреонина осуществляли постепенным наращиванием пептидной цепи, начиная с С-концевой аминокислоты треонина. N$^{\varepsilon}$-карбобензоксигруппу лизина удаляли гидрированием. Тетрапептид со свободной N$^{\varepsilon}$-группой лизина конденсировали с п-ди(2-хлорэтил)аминофенилуксусной кислотой, присоединяли цистеин, предварительно защищенный по функциональным группам, в результате чего получили соединение 1. Соединение 2 синтезировано посредством конденсации Цифетрелина после снятия защитной группы с N$^{\alpha}$-цистеина с п-ди(2-хлорэтил)-аминофенилуксусной кислотой.

Заключение. Разработаны методы синтеза 2 цитотоксических аналогов Цифетрелина. Соединения 1 и 2 исследуются на наличие противоопухолевой активности.

А.О. Соловьева, Т.Н. Позмогова, А.А. Красильникова, Ю.А. Воротников, А.Ф. Повещенко, М.А. Шестопалов

НОВЫЕ ПЕРСПЕКТИВНЫЕ АГЕНТЫ ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ И ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ДИАГНОСТИКИ НА ОСНОВЕ КЛАСТЕРНЫХ КОМПЛЕКСОВ МЕТАЛЛОВ

ФГБНУ НИИКЭЛ, Новосибирск

Введение. Одними из ключевых свойств октаэдрических кластерных комплексов молибдена являются генерация синглетного кислорода, рентгеноконтрастность и люминесценция в красной области спектра, что делает их чрезвычайно интересными для использования в фотодинамической терапии и биовизуализации. Однако такие комплексы неустойчивы в воде и физиологических жидкостях. Поэтому мы заключили их в кремниевые наночастицы. Синтезированные кремниевые наночастицы состава $\{Mo_6I_8\}$ @SiO_2 имеют хорошую растворимость, интенсивную люминесценцию, фотостабильность и низкую скорость выхода из клеток по сравнению с отдельными молекулами вещества. Основным фактором, определяющим эффективность $\{Mo_6I_8\}$ @SiO_2 в качестве диагностического и фотодинамического агента, является способность вещества быстро проникать в опухолевые клетки и медленно выходить из них.

Цель исследования – определить цитотоксичность, кинетику клеточного проникновения и выведения веществ из клеток, оценить их внутриклеточное распределение.

Материалы и методы. В работе использовали клеточную линию Hep-2. Цитотоксичность исследуемых веществ определяли с помощью МТТ-теста. Кинетику накопления и выведения препаратов из клеток определяли с помощью проточной цитофлуориметрии. Внутриклеточная локализация была оценена посредством трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ).

Результаты. Нами было показано, что $\{Mo_6I_8\}$@SiO_2 в концентрации от 1,5 до 1500 мкг/мл не оказывали значительного влияния на жизнеспособность и пролиферативную активность клеток. Максимальное накопление препарата в клетках наболюдается через 2 ч инкубации клеток с препаратом. Также была исследована скорость выведения препарата из клеток. Было определено, что препарат активно выходит из клеток в течение первых 2 ч, однако интенсивность флуоресценции клеток в течение последующих 24 ч остается на высоком уровне. С помощью ТЭМ нами было показано, что $\{Mo_6I_8\}$@SiO_2 локализуются в цитоплазме как в виде эндосомо-подобных структур, так и виде отдельных наночастиц. Эти данные свидетельствуют о том, что наночастицы проникают в клетки посредством эндоцитоза и способны выходить из внутриклеточных эндосом. Выход из эндосом является ключевым механизмом эффективности наночастиц в качестве фотосенсибилизаторов, поскольку достигается близость препарата к внутриклеточным органеллам.

Заключение. Таким образом, $\{Mo_6I_8\}$@SiO_2 имеют низкую токсичность, высокую степень внутриклеточного проникновения и низкую скорость выхода из клеток, а также обладают способностью выхода из эндосом. Благодаря вышеописанным свойствам данные соединения являются перспективными агентами для фотодинамической терапии и флуоресцентной диагностики.

Работа поддержана грантом РФФИ (№ 16-34-00542).

И.В. Сорокина, Н.А. Жукова, Т.Г. Толстикова, С.А. Попов, Э.Э. Шульц

БЕТАМИД – СРЕДСТВО С ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТЬЮ, СНИЖАЮЩЕЕ ГЕПАТО- И НЕФРОТОКСИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ЦИТОСТАТИЧЕСКОЙ ПОЛИХИМИОТЕРАПИИ

ФГБУН «НИОХ им. Н.Н. Ворожцова СО РАН», Новосибирск

Введение. Растительные метаболиты тритерпеноидного типа являются естественными модуляторами сигнальных сетей клеток, что обеспечивает их высокую биологическую активность, в том числе противоопухолевую, антиметастатическую, противовирусную, противовоспалительную, антиоксидантную. В результате химической модификации тритерпеноида бетулина, выделенного из коры березы, в НИОХ им. Н.Н. Ворожцова СО РАН был получен амид бетулоновой кислоты – Бетамид.

Цель исследования – экспериментальное изучение влияния Бетамида на токсические эффекты цитостатических препаратов в тканях печени и почек здоровых крыс и мышей-опухоленосителей, а также на противоопухолевую и антиметастатическую эффективность полихимиотерапии (ПХТ).

Материалы и методы. Эксперименты проводили на крысах линии Вистар, а также на мышах линий C57Bl/6j и CBA, которым перевивали соответственно карциному легких Льюис (LLC) и злокачественную лимфому, резистентную к циклофосфану (RLS). Животным однократно проводили ПХТ по схеме CHOP (парентеральное введение циклофосфана, доксорубицина, винкристина, преднизолона), а затем вводили Бетамид в курсовом режиме (8–14 дней по 50 мг/кг/сут). В конце опыта выполняли гистологическое исследование печени и почек, посредством морфометрического анализа с использованием метода светооптической микроскопии. У мышей также определяли влияние агента на динамику роста первичного узла и диссеминацию.

Результаты. Введение Бетамида на фоне ПХТ снижает в печени животных количество некротизированных гепатоцитов (на 40 % у крыс, на 50–60 % у мышей), уменьшает степень дистрофии, повышает объемную плотность синусоидов, снижает холестаз, увеличивает количество двуядерных клеток и внутриклеточные запасы гликогена. Количество метастазов в печени снижается на 30–40 %. В почках также отмечено существенное снижение плотности некрозов (на 60–80 %) и нефроцитов с тяжелыми формами дистрофии, уменьшение альтеративных изменений, увеличение просвета проксимальных канальцев (на 50–70 %). Бетамид усиливает на 20–30 % ингибиторный эффект ПХТ на рост первичного узла опухоли и увеличивает ее антиметастатическое действие в тканях печени и легких. В режиме изолированного введения (без ПХТ) Бетамид задерживает рост трансплантатов на 20–35 %, а также снижает количество метастатических узлов на 50–70 % в легких и на 40–50 % в печени. Показано, что протекторный эффект Бетамида связан с индукцией цитопротекторного

сигнального пути Nrf2-ARE, а противоопухолевый – со стимуляцией апоптоза.

Заключение. Бетамид можно рассматривать как эффективный корректор неспецифических гепато- и нефротоксических эффектов цитостатической ПХТ, не оказывающий стимулирующего влияния на рост первичного узла и метастазов опухоли.

Е.Ф. Странадко

ВОЗМОЖНОСТИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ НАИБОЛЕЕ АГРЕССИВНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

ФГБУ ГНЦ ЛМ ФМБА России, Москва

Введение. Фотодинамическая терапия (ФДТ) в онкологии открывает широкие возможности для различных лечебных воздействий радикального и паллиативного характера. Наш опыт применения данной технологии базируется на лечении более 1500 больных злокачественными новообразованиями различной локализации.

Цель исследования – изучение эффективности ФДТ наиболее агрессивных форм злокачественных опухолей: рака пищевода, рака легкого с поражением трахеи и крупных бронхов, рака языка и слизистой оболочки полости рта, рака большого дуоденального сосочка (БДС) и внепеченочных желчных протоков, меланомы кожи и ее метастазов.

Материалы и методы. В качестве источников света использованы лазеры российского производства с длиной волны 630 нм – для фотогема, 670 нм – для фотосенса, 662 нм – для хлориновых производных. Дозы световой энергии составляли 100–300 Дж/см^2 при поверхностном облучении, 100–300 Дж/см^2 длины диффузора при внутрипросветном облучении трубчатых органов с использованием световодов с цилиндрическими диффузорами, 200–300 Дж/см^2 при ФДТ внутрикожных метастазов меланомы, 300 Дж/см^2 при ФДТ первичной меланомы с фосканом и 900–9000 Дж/см^2 при ФДТ с другими фотосенсибилизаторами. ФДТ проведена 42 больным раком пищевода, 11 неоперабельным больным центральным раком легкого, 76 больным первичным и рецидивным плоскоклеточным раком языка и слизистой оболочки полости рта (50 больным – в качестве самостоятельного метода лечения и 26 – в качестве компонента комбинированного и комплексного лечения в сочетании с дистанционной γ-терапией и неоадъювантной полихимиотерапией), 28 больным раком БДС и внепеченочных желчных протоков и 18 больным с различными клиническими вариантами меланомы (у 10 – первичная меланома, у 3 – рецидивы меланомы и у 5 – внутрикожные метастазы меланомы).

Результаты. При раке пищевода I–II стадии (n = 2) достигнута полная резорбция опухоли с продолжительностью жизни более 3,5 лет. Дисфагия при обтурирующих опухолях III–IV стадии уменьшилась у всех больных, а при контрольном рентгенологическом исследовании было выявлено увеличение просвета пищевода до 1,0–1,5 см. При раке легкого получен паллиативный клинический эффект продолжительностью до 2 лет. При плоскоклеточном раке орофарингеальной локализации полная резорбция (ПР) опухолей во всей группе больных составила 65,8 % (n = 50), частичная резорбция наблюдалась у 30,3 % (n = 23). При ФДТ в качестве самостоятельного метода лечения (монотерапия) ПР отмечена у 28 (56 %) из 50 пациентов и частичная – у 19 (38 %). У 3 (6 %) больных лечение оказалось неэффективным. При раке БДС и внепеченочных желчных протоков средняя продолжительность жизни пациентов после ФДТ составила 2,5 года. У всех 10 больных первичной меланомой имела место полная резорбция опухоли с длительностью наблюдения от 6 мес до 12 лет.

Заключение. Даже при наиболее агрессивных злокачественных опухолях, резистентных к традиционным методам лечения, ФДТ во многих случаях оказывается эффективной, позволяя излечить больных. При инкурабельных для традиционных методов лечения опухолях, таких как распространенный обтурирующий рак пищевода, рак легкого с поражением трахеи и крупных бронхов, рак БДС и внепеченочных желчных протоков, ФДТ позволяет добиться выраженного паллиативного эффекта, улучшает качество и увеличивает продолжительность жизни.

Е.Ф. Странадко[1], М.В. Рябов[1], Т.И. Малова[2]

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ – НОВАЯ МЕДИЦИНСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА И НЕОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

[1]ФГБУ ГНЦ ЛМ ФМБА России, Москва;
[2]ООО «ВЕТА-Гранд», Москва

Введение. Почти 25-летний опыт клинического применения фотодинамической терапии (ФДТ) в различных отраслях медицины позволяет нам сформулировать основные положения о механизмах действия, достоинствах и преимуществах ФДТ по сравнению с традиционными методами терапии. Действие ФДТ проявляется путем прямого цитотоксического повреждения раковых клеток или путем деструкции питающих опухоль кровеносных сосудов. По данным экспериментальных исследований, на сосудистый механизм приходится 60 % противоопухолевого действия ФДТ, на прямое цитотоксическое повреждение клеток опухоли – 30 % и на иммунные механизмы – 10 %. Успехи ФДТ злокачественных новообразований способствовали тому, что исследователи начали искать пути ее использования для лечения различных неопухолевых заболеваний.

Цель исследования – оценить эффективность ФДТ рака кожи и возможность ее применения при неопухолевых заболеваниях.

Материалы и методы. Лечение методом ФДТ проведено 230 больным местно-распространенным базальноклеточным и плоскоклеточным раком кожи, 143 (62 %) из них – с рецидивом опухоли после традиционных методов лечения. Использовали фотосенсибилизаторы (ФС): фотогем, фотосенс, фотодитазин, фоскан, фотолон и источники света с длиной волны, соответствующей длинноволновому пику поглощения ФС.

Результаты. В результате ФДТ у 152 (66 %) больных отмечена полная резорбция опухоли, у 78 (34 %) – частичная. Большинство пациентов с частичной резорбцией подвергнуты повторным курсам ФДТ с увеличенными дозами ФС и плотностью световой энергии. При динамическом наблюдении в отдаленные сроки после полной резорбции опухолей рецидивы развились у 11 % больных.

Заключение. В настоящее время имеются неоспоримые доказательства эффективности ФДТ при лечении местнораспространенного рака кожи. Достоинства ФДТ проявляются при лечении рака кожи на лице и других открытых участках тела, так как наряду с высоким процентом излечений ФДТ выгодно отличается от традиционных методов хорошими косметическими результатами, что оказывается бесценным фактором при локализации опухоли на лице, особенно у женщин. Наряду с онкологией ФДТ все шире применяется в стоматологии и косметологии. Этому способствует тот факт, что в процессе терапии не разрушается коллагеновый каркас тканей, а наоборот, усиливается синтез коллагена, обеспечивающий восстановление целостности кожи преимущественно не путем рубцевания, а путем репарации местных тканей, что и дает возможность наряду с ликвидацией патологического очага получить хороший косметический эффект.

Т.С. Ступина, Н.А. Санина, А.А. Терентьев

ВЛИЯНИЕ НИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА НА ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ ФАКТОР NF-κB

ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область

Введение. Транскрипционный фактор NF-κB является регулятором таких важных клеточных процессов, как клеточный цикл, клеточный ответ на различные стимулы, а также участвует в повышении жизнеспособности и усилении пролиферации клеток, что связано с его ролью в развитии опухолей, поэтому он рассматривается в качестве молекулярной мишени для противоопухолевых препаратов. Известно, что одним из регуляторов NF-κB является монооксид азота, который также является молекулой, выполняющей множество функций в клетке. В связи с этим большой интерес в качестве потенциальных противоопухолевых препаратов вызывают доноры оксида азота.

Цель исследования – изучение цитотоксичности спонтанных доноров оксида азота нитрозильных комплексов железа (НКЖ), а также их влияние на транскрипционный фактор NF-κB.

Материалы и методы. В работе изучались цитотоксические свойства НКЖ, содержащих в качестве лигандов фенилтиил (Ph), 2-амино-фенилтиил (2AmPh) и 4-аминофенилтиил (4AmPh). Исследования проводились на опухолевых клетках M-HeLa (Институт цитологии РАН). Для определения цитотоксичности исследуемых комплексов был использован метод МТТ-окрашивания. Оценка ДНК-связывающей активности проводилась методом торможения в геле с использованием олигонуклеотида, содержащего консенсусную последовательность для связывания белка NF-κB.

Результаты. В ходе работы были получены данные по цитотоксичности исследуемых комплексов, а также цитотоксичности их лигандов (тиофенол, 2-амино-тиофенол и 4-амино-тиофенол (4-Ам-ТФ)). Доказано, что цитотоксичность комплексов Ph и 2-AmPh примерно в 2 раза превышает цитотоксичность их лигандов, что дает возможность говорить о значительном вкладе лигандов в цитотоксичность комплексов. Доза IC_{50} комплекса 4-AmPh в 4 раза меньше дозы IC_{50}4-АмТФ, что может свидетельствовать о вкладе в токсичность комплекса, выделяемого комплексом оксида азота. Были построены профили клеточного цикла клеток M-HeLa в контроле и при действии исследуемых комплексов в дозе IC_{50} в течении 24 ч. Из результатов видно, что все исследуемые комплексы являются цитотоксичными и вызывают гибель клеток. Дальнейшим этапом работы было изучение ядерной транслокации белка NF-κB. Нами были получены данные о накоплении белка NF-κB в ядрах. В ходе исследования было установлено, что данные комплексы незначительно влияют на ДНК-связывающую активность.

Заключение. В ходе выполнения работы нами было обнаружено, что исследуемые комплексы обладают средней цитотоксичностью и вызывают гибель клеток HeLa. Были определены дозы IC_{50} для исследуемых НКЖ. Доказано, что НКЖ вызывают накопление транскрипционного фактора NF-κB в ядрах, оценено влияние НКЖ на его ДНК-связывающую активность.

Д.В. Табаков, Т.Н. Заботина, А.А. Борунова, О.В. Короткова, З.Г. Кадагидзе

ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ NK- И NKT-ЛИМФОЦИТОВ У ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Для NK-клеток не существует специфического антигена, как Т- или В-клеточные рецепторы, и их принято оценивать по комбинации антигенов CD16 и CD56. CD16 – низкоаффинный рецептор к Fc-фрагменту иммуноглобулина G, CD56 – гликопротеиновый рецептор, принимающий участие в межклеточной адгезии. В норме количество NK-клеток составляет 10–25 % от общего числа лимфоцитов. Для их определения принято использовать тест-систему $CD3^-$ FITC/$CD16\&CD56^-$ PE, что позволяет одновременно дифференцировать их от Т-лимфоцитов и субпопуляции NKT-клеток, несущей признаки обеих популяций.

Цель исследования – оценить гетерогенность популяций NK- и NKT-клеток, обусловленную различной экспрессией CD16 и CD56 в периферической крови (ПК) здоровых доноров.

Материалы и методы. Проведено исследование фенотипа лимфоцитов ПК 30 здоровых доноров методом проточной цитометрии с помощью двухлазерного проточного цитометра аналитического типа FACSCalibur с применением пакета программного обеспечения сбора и анализа данных CELLQuest (BD Biosciences). В работе были использованы антитела к антигенам: $CD45^-$ FITC, $CD3^-$ FITC, $CD56^-$ PE, $CD16^-$ PE^- Cy5, $CD16^+56^-$ PE (Beckman Coulter).

Результаты. В ПК здоровых доноров субпопуляция NK-лимфоцитов ($CD3^-$ $CD16\&CD56^+$) составила 18,0 ± 11,3 %. При анализе экспрессии антигенов CD16 и CD56 на поверхности NK-клеток оказалось, что количество $CD3^-$ CD56+-клеток составляет 16,2 ± 8,1 %, что совпадает со значением $CD3^-$ $CD16\&CD56^+$-клеток, а количество $CD3^-$ $CD16^+$ меньше (11,0 ± 6,7 %). Было выявлено, что основную массу NK-клеток составляют $CD56^+$low$CD16^+$low-лимфоциты (52,3 ± 19,9 % из $CD45^+CD3^-$-лимфоцитов), а $CD56^-$ $CD16^+$-клетки – 1,7 ± 0,9 %. Субпопуляции с фенотипом $CD56^+CD16^-$ и $CD56^+$low$CD16^+$hi составили менее 1 %. При анализе популяции $CD3^+$-лимфоцитов коли-

чество $CD3^+CD16\&CD56^-$-клеток было 7,1 ± 5,1 %, в то время как $CD3^+CD56^+$- и $CD3^+CD16^+$-клеток было значительно меньше (4,3 ± 3,0 % и 3,1 ± 2,9 % соответственно). Основную массу NKT-клеток составляют $CD56^+CD16^-$-лимфоциты (5,5 ± 3,7 % из $CD45^+CD3^+$-клеток), реже встречаются клетки с фенотипом $CD56^-CD16^+$ и $CD56^+CD16^+$ (3,0 ± 4,2 % и 0,7 ± 0,6 % соответственно).

Заключение. В структуре популяций NK- и NKT-клеток присутствует несколько субпопуляций лимфоцитов, отличающихся по экспрессии антигенов CD16 и CD56. Для NK-клеток наиболее характерны субпопуляции $CD56^+lowCD16^+low^-$-, $CD56^-CD16^+$-лимфоцитов и 2 минорные субпопуляции $CD56^+lowCD16^+hi$ и $CD56^+CD16^-$. Популяция NKT-клеток представлена в основном субпопуляциями $CD56^+CD16^-$-, $CD56^-CD16^+$- и $CD56^+CD16^+$-клеток.

А.В. Таллерова, О.С. Кузнецова

ВЛИЯНИЕ ЛАДАСТЕНА НА РОСТ КАРЦИНОМЫ ЛЕГКИХ ЛЬЮИС У МЫШЕЙ

ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», Москва

Введение. Современная интенсивная противоопухолевая химиотерапия сопровождается многочисленными побочными эффектами. В связи с этим одной из важнейших проблем экспериментальной и клинической фармакологии является разработка новых фармакотерапевтических подходов к снижению токсичности и повышению терапевтической эффективности лекарственного метода лечения злокачественных опухолей. В настоящее время определено место антиоксидантов в профилактике как опухолевых заболеваний, так и осложнений цитостатической терапии. В НИИ фармакологии им. В.В. Закусова разработан анксиолитический препарат Ладастен (N-(2-адамантил)-N-(2-n-бромфенил)амин), сочетающий антирадикальную и иммунофармакологическую активности.

Цель исследования – оценить влияние Ладастена на рост опухоли карциномы легкого Льюис (Lewis lung carcinoma, LLC) у мышей линии C57Bl/6.

Материалы и методы. В качестве экспериментальной модели злокачественного роста была использована эпидермоидная LLC, штаммы опухолевых клеток получены из банка клеточных культур НИИ ЭДиТО РОНЦ им. Н.Н. Блохина. Взвесь опухолевых клеток LLC имплантировали мышам подкожно в область подмышечной впадины по 50 мг в 0,5 мл раствора Хэнкса на 1 мышь. Животных рандомизировали в следующие группы: 1-я – группа активного контроля (LLC), в которой обработку производили 1 % суспензией крахмала, 2-я – Ладастен в дозе 30 мг/кг. Введение препарата начинали через 48 ч после инокуляции опухоли и продолжали в течение 7 дней. На 9-е сутки развития LLC через 24 ч после окончания введения крахмала и Ладастена мышам измеряли объем опухоли метрически и вычисляли процент торможения роста опухоли (ТРО). Статистическую обработку данных проводили по непарному t-критерию Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. При введении Ладастена в течение 7 дней в дозе 30 мг/кг у мышей-опухоленосителей наблюдали ТРО на 60,7 % (1025,5 ± 106,1 $мм^3$) по сравнению с контрольной группой (2611,5 ± 216,5 $мм^3$).

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что применение Ладастена безопасно при развитии опухоли, и монотерапия препаратом вызывает выраженное ТРО, что определяет перспективы исследования Ладастена при комбинированном применении в химиотерапии.

П.А. Тараканов[1], А.О. Симаков[2], М.Е. Неганова[1], Е.Н. Тараканова[1], Д.В. Мищенко[3]

5,7-БИС(СТИРИЛ)-1,4-ДИАЗЕПИНОПОРФИРАЗИНЫ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРЫ: СИНТЕЗ, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И ФОТОФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

[1]ИФАВ РАН, Черноголовка, Московская область;
[2]Центр теоретической и компьютерной химии, Осло, Норвегия;
[3]ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область

Введение. Полусинтетические фотосенсибилизаторы (ФС) тетрапиррольного типа благодаря своей биосовместимости и высоким фотофизическим характеристикам на сегодняшний день лидируют среди ФС, прошедших клинические испытания. Однако ввиду сложности и нестабильности их структуры поиск синтетических аналогов тетрапиррольных макроциклов является актуальным направлением в химии макрогетероциклических соединений. К основным недостаткам синтетических ФС относят низкую биосовместимость и отсутствие доступного разнообразия. Одним из перспективных направлений решения данной проблемы является синтез новых гетероциклических аналогов фталоцианина.

Цель исследования – синтез тетрапиррольных макроциклов, содержащих 5,7-бис(стирил)-1,4-диазепиновые гетероциклы. Исследование физико-химических и фотофизических свойств полученных соединений, а также оценка их перспективности в качестве ФС для фотодинамической терапии.

Материалы и методы. Очистку соединений проводили с помощью гельпроникающей хроматографии. Строение полученных соединений подтверждено методами ЭСП, инфракрасного (ИК) излучения, 1D- и 2D-ядерной магнитно-резонансной спектроскопии и MALDI-TOF масс-спектрометрии. Квантовые выходы флуоресценции и генерации синглетного кислорода определены методом сравнения со стандартом (PcZn). Теоретический анализ механизма фотосенсибилизации в рамках модели диаграммы Яблонского проводили на основе квантово-химических расчетов методом теории функционала плотности (DFT), используя программный пакет ORCA 3.0.3.

Результаты. Разработаны методы синтеза новых макрогетероциклов, содержащих 1,4-диазепиновые гетероциклы как симметричного (A4-типа), так и низкосимметричного строения (A3B-типа). В рамках полученной серии структурных аналогов 5,7-бис(стирил)-1,4-диазепинопорфиразинов удалось установить взаимосвязь структура – свойство, что открывает эффективные пути управления физико-химическими и фотофизическими свойствами данного класса соединений для решения как терапевтических, так и диагностических задач.

Заключение. Интенсивное поглощение в ближнем ИК-диапазоне (более 700 нм), высокие квантовые выходы син-

глетного кислорода, возможность реализации широкого синтетического разнообразия 1,4-диазепинового гетероцикла делают 5,7-бис(стирил)-1,4-диазепинопорфиразины перспективными для создания синтетических ФС 3-го поколения.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (№ 14-03-32031).

Л.В. Татьяненко, А.И. Котельников, О.В. Доброхотова, Н.Ю. Шматко, Н.А. Санина, С.М. Алдошин

НИТРОЗИЛЬНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ЖЕЛЕЗА С ФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ ЛИГАНДАМИ ТИОКАРБАМИДОМ И ЕГО АЛИФАТИЧЕСКИМИ ПРОИЗВОДНЫМИ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ АНТИМЕТАСТАТИКИ

ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область

Введение. Известно, что активный транспорт ионов Ca^{2+} через мембрану саркоплазматического ретикулума (СР) происходит за счет энергии гидролиза аденозинтрифосфата (АТФ), осуществляемого Ca^{2+}-АТФазой СР. Ингибирование транспорта Ca^{2+} изменяет соотношение внутри- и внеклеточного содержания Ca^{2+}, что предотвращает образование тромбов и адгезию метастатических клеток к эндотелию капилляров, препятствуя росту метастазов.

Цель исследования – изучение влияния новых катионных динитрозильных комплексов железа с тиокарбамидом и его алифатическими производными – новых синтетических аналогов природных доноров NO – на ферментативную активность Ca^{2+}-АТФазы СР.

Материалы и методы. Исследовали соединения $[Fe(C_3N_2H_8S)Cl(NO)_2]^0[Fe(NO)_2(C_3N_2H_8S)_2]^+Cl^-$ (I), $[Fe(SC(N(CH_3)_2)_2(NO)_2]Cl$ (II), $[Fe(SC(NH_2)_2)_2(NO)_2]Cl \times H_2O$ (III) и $[Fe(SC(NH_2)_2)_2(NO)_2]_2SO_4 \times H_2O$ (IV). Фермент Ca^{2+}-АТФазу СР выделяли из белых мышц задних конечностей кроликов, удельная активность Ca^{2+}-АТФазы составляла 15000 нМ/мг белка/мин. Гидролитическую активность Ca^{2+}-АТФазы рассчитывали из тангенса угла наклона кинетической кривой гидролиза АТФ. О скорости изменения концентрации ионов Ca^{2+} судили по кинетике их поглощения везикулами СР. Обратимость действия исследованных соединений определяли путем диализа буферного раствора Ca^{2+}-АТФазы СР, содержащего 10^{-5} М соединений I–IV. Диализ проводили против 100-кратного избытка буферного раствора в отсутствие комплексов в течение 24 ч при 4 °С.

Результаты. Показано, что нитрозильные комплексы железа I–IV полностью тормозят транспортную и гидролитическую функции Ca^{2+}-АТФазы СР в концентрации 10^{-4} М. В концентрации 10^{-5} М они на 57 ± 6; 75 ± 8; 80 ± 8 и 85 ± 9 % тормозят активный транспорт Ca^{2+} и на 0; 40 ± 4; 48 ± 5 и 38 ± 4 % гидролиз АТФ соответственно. Комплекс II обратимо и неконкурентно тормозит гидролитическую функцию Ca^{2+}-АТФазы СР с $K_i = 1,7 \times 10^{-6}$ М, что указывает на нековалентное связывание соединения с ферментом и предполагает его влияние на структурно-функциональное состояние мембраны СР.

Заключение. Полученные данные позволяют предположить наличие у соединений I–IV антиметастатической активности.

Исследования поддержаны Программой Президиума РАН № 1 «Наноструктуры: физика, химия, биология, основы технологий».

К.С. Титов[1], М.В. Киселевский[2], И.Ж. Шубина[2], И.Н. Михайлова[2]

РОЛЬ БИОТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ С МЕТАСТАТИЧЕСКИМИ ПЛЕВРИТАМИ, АСЦИТАМИ И ПЕРИКАРДИТАМИ

[1]ГБУЗ МКНЦ ДЗМ, Москва;
[2]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Цель исследования – провести сравнительную оценку клинической эффективности и переносимости различных методов внутриполостной иммунотерапии у больных с опухолевыми серозитами, резистентными к системной лекарственной терапии.

Материалы и методы. В исследование включены 203 больных с различными диссеминированными злокачественными опухолями с морфологически подтвержденными опухолевыми серозитами (плевриты – 93, асциты – 72 и перикардиты – 38). Для генерации лимфокин-активированных киллеров (ЛАК) использовали мононуклеарные лейкоциты, полученные из серозного экссудата больного (аутологичные) или при сепарации периферической крови здоровых доноров (аллогенные), которые далее генерировали в CO_2-инкубаторе в присутствии интерлейкина-2 (ИЛ-2) (Ронколейкин, ООО «Биотех», Россия) в течение 3 сут. Для проведения внутриполостной биотерапии серозную полость катетеризировали Плевроканом (B. Braun, Германия) по стандартным методикам. Экссудат максимально удаляли до начала лечения и через каждые 2 дня в процессе иммунотерапии. В серозную полость 1 раз в день ежедневно вводили Ронколейкин (ИЛ-2) по 1 млн МЕ ± ЛАК по 100–150 млн клеток № 10 при плевритах, № 15 при асцитах и № 5 при перикардитах. В конце иммунотерапии Плеврокан удаляли. По окончании лечения отсутствие опухолевых клеток в остаточном экссудате в результате их лизиса активированными лимфоцитами коррелировало с наступлением клинического эффекта.

Результаты. Внутриполостная биотерапия у больных с опухолевыми серозитами позволяет достичь объективного ответа для опухолевых плевритов: при использовании ИЛ-2 и аутологичных ЛАК – 92,9 %, ИЛ-2 и аллогенных ЛАК – 93,4 %, ИЛ-2 – 80 % (продолжительность объективного ответа 8,2; 8,5 и 7,9 мес соответственно); для опухолевых асцитов: при применении ИЛ-2 и аллогенных ЛАК – 73,2 %, ИЛ-2 – 61,3 % с продолжительностью объективного ответа 5,1 и 4,8 мес (в 69,5 и 64,7 % случаев в 2 группах больных раком яичников после внутрибрюшинной иммунотерапии в сыворотке крови отмечалось достоверное снижение уровня онкомаркера СА-125 по сравнению с исходно повышенным уровнем; $p < 0,05$); для опухолевых перикардитов: при использовании ИЛ-2 и аллогенных ЛАК – 95,7 %, ИЛ-2 – 86,7 % (продолжительность объективного ответа 3,4 и 3,2 мес). Основным побочным эффектом внутриполостной биотерапии в 83 % случаев был гриппоподобный синдром. Гематологической и других видов токсичности у пациентов отмечено не было.

Заключение. Таким образом, внутриполостную биотерапию у больных с опухолевыми серозитами, возникающими при прогрессировании заболевания после 1–3 линий системной цитостатической терапии, следует начинать с введения ИЛ-2 в монорежиме, как не менее высокоэф-

фективного и доступного для практического применения метода, а при его неэффективности необходимо дополнять лечение введением в серозную полость аллогенных ЛАК-клеток.

А.С. Тихомиров[1, 2], Л.Г. Деженкова[1], А.Е. Щекотихин[1, 2]

ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АНТРАФУРАНКАРБОКСАМИДОВ, СОДЕРЖАЩИХ CF_3-ГРУППУ В ПОЛОЖЕНИИ 2

[1]ФГБНУ «НИИНА им. Г.Ф. Гаузе», Москва;
[2]ФГБОУ ВПО «РХТУ им. Д.И. Менделеева», Москва

Введение. Антрафурандион-3-карбоксамиды высокоактивны в отношении ряда культур опухолевых клеток, в том числе резистентных, а наиболее активное производное ЛХТА-2034 (Щекотихин А.Е. и др. Патент РФ № 2554939, 2015) прошло доклинические исследования и рекомендовано для проведения I стадии клинических испытаний.

Цель исследования – синтез аналогов антрафурандиона ЛХТА-2034 и исследование влияния трифторметильного заместителя в положении 2 на способность новых соединений блокировать рост опухолевых клеток и работу топоизомеразы 1.

Материалы и методы. ЛХТА-2251 – новый аналог препарата ЛХТА-2034, содержащий CF_3-группу в положении 2 гетероцикла, получен конденсацией 4,11-дигидрокси-5,10-диоксо-2-трифторметилантра[2,3-*b*]фуран-3-карбоновой кислоты [Тихомиров А.С. и др. Химия гетероциклических соединений 2014; (2):298] и циклического диамина. Антипролиферативную активность веществ определяли в МТТ-тесте на опухолевых клетках меланомы B16, миелоидного лейкоза человека K562 и карциномы кишечника HCT116. Влияние на активность топоизомеразы 1 (Promega, США) изучали в реакции релаксации суперскрученной плазмиды pBR_{322} (Fermentas, Литва).

Результаты. Новый 2-CF_3-антрафурандион ЛХТА-2251 обладает более высокой растворимостью по сравнению с ЛХТА-2034, однако модификация метильной группы в CF_3-группу приводит к 5–10-кратному снижению активности препарата ЛХТА-2251 в отношении тестируемых линий клеток. Изучение влияния веществ на работу топоизомеразы 1 показало, что новый антрафурандион ЛХТА-2251 также уступает в способности блокировать активность фермента соединению ЛХТА-2034.

Заключение. Замена метильной группы в положении 2 антрафуран-3-карбоксамидов на трифторметильную повышает растворимость производных данного химического класса, однако приводит к падению антипролиферативных свойств, что коррелирует со снижением их способности ингибировать топоизомеразу 1.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-33-00908 мол_а.

Е.Г. Тырсина, С.И. Никулицкий, О.О. Рябая, А.Н. Иншаков

ЛОКАЛИЗАЦИЯ РЕЦЕПТОРА VEGFR1 В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Любые нарушения регуляции ангиогенеза приводят к тяжелым последствиям. В опухоли баланс проангиогенных и антиангиогенных факторов сдвинут в сторону первых. Ключевым белком, стимулирующим образование кровеносных сосудов, является фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), а его эффекты определяются взаимодействием с соответствующим рецептором. Наиболее противоречива информация о VEGFR1: до сих пор точно не установлена ни его функция, ни клеточная локализация. Различные изоформы этого рецептора могут проявлять противоположные свойства. Полноразмерный мембраносвязанный mVEGFR1 способствует правильному созреванию кровеносных сосудов в эмбриогенезе, а растворимый sVEGFR1 подавляет ангиогенез. Помимо «сосудистых» функций, VEGFR1 экспрессируется многими опухолевыми клетками и ответственен за их выживание, миграцию, инвазию и метастазирование. Установление точной локализации VEGFR1 в опухолевых клетках позволит в будущем рассматривать его как перспективную мишень в терапии злокачественных новообразований.

Цель исследования – выявить и установить локализацию белка VEGFR1 в опухолевых клетках.

Материалы и методы. В работе использованы линии опухолевых клеток человека различного гистогенеза: A431, A549, Sn12c. Ведение культур осуществляли по стандартной методике. Оценку уровня экспрессии гена *VEGFR1* проводили методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией. Наличие белка в целых клетках регистрировали с помощью иммуноцитохимического (ИЦХ) исследования и непрямой реакции иммунофлуоресценции (РИФ) с последующим анализом на проточном цитофлуориметре. Вклад ядерной локализации VEGFR1 оценивали разработанным методом РИФ с экстрагированными интактными ядрами.

Результаты. Во всех трех клеточных линиях обнаружена базальная экспрессия гена *VEGFR1*. По данным ИЦХ-исследования также было установлено, что все перечисленные линии содержат белок VEGFR1, причем наибольшее количество зафиксировано в клетках A431. В связи с этим указанная линия была выбрана для детальных исследований. РИФ с интактными клетками A431 показала практически полное отсутствие VEGFR1 на цитоплазматической оболочке (не более 2,7 %), однако после пермеабилизации метанолом уровень сигнала возрос до 47,0 %. С целью уточнения внутриклеточной локализации VEGFR1 оценивали количество белка снаружи и внутри ядра. В связи с этим была разработана методика выделения интактных ядер для РИФ. Результаты экспериментов свидетельствуют о присутствии VEGFR1 на наружной ядерной мембране (5,0 %), однако значительно большее количество белка зарегистрировано внутри ядра (18,4 %).

Заключение. Полученные данные по выяснению локализации VEGFR1 позволят подбирать адекватные способы ингибирования его активности, что может привести к снижению злокачественного потенциала опухоли и степени ее васкуляризации.

Е.Г. Тырсина, С.И. Никулицкий, А.Н. Иншаков

ИССЛЕДОВАНИЕ РЕЦЕПТОРА VEGFR1 НА ИНТАКТНЫХ ЯДРАХ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Целью многих исследований является регистрация интересующих клеточных белков. Многие годы эту задачу с успехом позволяет реализовать метод проточной цитофлуориметрии. Вместе с тем проточная цитометрия дает возможность детектировать антигены либо на наружной поверхности клетки, либо внутри нее после пермеабилизации. Однако даже регистрация соответствующего протеина внутри клетки не позволяет судить о его распределении по клеточным компартментам. Для решения вопроса о точной внутриклеточной локализации белка применяют вестерн-блоттинг и иммуноцитохимическое исследование, но данные методики являются полуколичественными и трудно сопоставимы с результатами проточной цитометрии. Поэтому возникает необходимость расширить возможности проточной цитометрии, а именно – разделить сигналы от различных компартментов клетки. Такая возможность даст экспериментаторам более тонкий инструмент оценки клеточной реакции на то или иное воздействие.

Цель исследования – оценка количественного содержания рецептора фактора роста эндотелия сосудов 1-го типа (VEGFR1) в интактных ядрах методом непрямой реакции иммунофлуоресценции с помощью проточной цитофлуориметрии.

Материалы и методы. Изучали белок VEGFR1. Контрольной для данного протеина была выбрана клеточная линия эпидермоидной карциномы человека А431. В целях идентификации VEGFR1 использовали следующие первичные и вторичные антитела: мышиные анти-VEGFR1 #MAB321 (R&D Systems) и козьи антимышиные поликлональные IgG: FITC #STAR70 (AbD Serotec). Для контроля отсутствия цитозольной примеси в ядерном экстракте в качестве первичных применяли кроличьи антитела к β-актину #4970L (Cell Signaling Technology), а вторичных – козьи антикроличьи IgG: Alexa Fluor 488 #A-11008 (Invitrogen). Интактность ядер оценивали, анализируя мазки из полученной суспензии, окрашенные азуром и гематоксилином по Майеру.

Результаты. Полученные данные подтвердили, что разработанный нами метод экстракции, очистки и стабилизации ядер подходит для их исследования на проточном цитофлуориметре. Антигены VEGFR1, расположенные на наружной ядерной мембране, оказались доступными для связывания со специфическими антителами (4,9 %). После пермеабилизации кариолеммы метанолом VEGFR1 регистрировался и внутри ядра (18,4 %). В обоих случаях доля ядер, неспецифически связавшихся с вторичными антителами, не превышала 0,1 %. Чистота ядерной фракции по критерию отсутствия цитоплазматического белка β-актина составляла более 99 %. Эти данные были подтверждены результатами микроскопического исследования окрашенных препаратов. При точном соблюдении условий результаты ряда независимых экспериментов хорошо воспроизводились.

Заключение. Разработанный нами метод экстракции, очистки и стабилизации ядер пригоден для идентификации ядерных белков на проточном цитофлуориметре.

Б.С. Федоров, М.А. Фадеев, А.Б. Еремеев, Н.П. Коновалова, С.А. Гончарова, Т.А. Раевская, Д.В. Мищенко

ГИБРИДНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ НА ОСНОВЕ ДИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ В КАЧЕСТВЕ ХЕМОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ В КОМБИНИРОВАННОЙ ЦИТОСТАТИЧЕСКОЙ ХИМИОТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область

Введение. Особый интерес представляют попытки снижения побочных эффектов противоопухолевых химиопрепаратов посредством использования в комбинированной химиотерапии малотоксичных хемосенсибилизаторов. Однако выявление таких хемосенсибилизаторов носит случайный характер и не поддается систематизации и выявлению классов веществ с такими свойствами. В этой связи поиск новых низкотоксичных противоопухолевых или адъювантных средств, которые бы могли резко понизить терапевтические дозы цитостатиков с сохранением терапевтических характеристик, является важнейшей задачей проводимых исследований в области онкологии.

Цель исследования – осуществить синтез, изучить противоопухолевое действие и возможность использования оксиамидов дикарбоновых кислот в качестве адъювантных средств (или хемосенсибилизаторов) в комбинированной цитостатической терапии раковых опухолей в сочетании с цитостатиками.

Материалы и методы. Работа выполнена на мышах-самцах линии BDF_1 массой тела 22–24 г. Содержание животных и эксперименты осуществляли согласно «Правилам проведения работ с использованием лабораторных животных» (приказ МЗ СССР № 755 от 12.08.1977). В качестве критериев эффективности были использованы количество выживших животных по истечении 60 сут наблюдения после начала терапии, средняя продолжительность жизни (СПЖ) и увеличение СПЖ. Степень ингибирования роста опухоли определяли по торможению ее роста. Рассчитывали также индекс ингибирования метастазов, который позволяет оценить степень метастатического поражения

Результаты. Использование в комбинированной цитостатической терапии гидроксиамидов щавелевой, винной и малеиновой кислот в сочетании с цисплатином или циклофосфамидом обеспечивают 100 % выживаемость лейкозных животных, а также полное ингибирование процессов метастазирования при экспериментальных меланоме В16 и карциноме легких Льюис. Следовательно, можно предположить, что нами получены таргетные препараты, которые способны дезактивировать гистондеацетилазу – фермент, участвующий в синтезе ДНК опухолевых клеток. В продолжение этих работ нами синтезированы гибридные соединения на основе дикарбоновых кислот и аминокислот, некоторые из них обеспечивают 50 % выживаемость животных, увеличение СПЖ оставшихся животных составляет 200 %.

Заключение. Таким образом, поиск новых биогенных хемосенсибилизаторов (таргетных препаратов) является многообещающей стратегией в экспериментальной химиотерапии злокачественных новообразований.

Т.А. Федотчева[1, 2], О.П. Шейченко[1], К.Е. Широких[2]

|ЦИТОСТАТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ АЛКАЛОИДА КУБЫШКИ ЖЕЛТОЙ НУФЛЕИНА

[1]ФГБНУ ВИЛАР, Москва;
[2]ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Введение. Основной задачей при создании противоопухолевых соединений является их высокая избирательная активность по отношению к опухолевым клеткам и наименьшее цитотоксическое действие по отношению к нормальным клеткам. Такими свойствами могут обладать алкалоиды, полученные из лекарственных растений. Достаточно хорошо изученным алкалоидом является препарат лютенурин, полученный из кубышки желтой (*Nuphar luteae (L.) Smith syn. Nuphar luteum L.*) сотрудниками ВИЛАР и представляющий собой сумму гидрохлоридов димерных серосодержащих фуранохинолизидиновых алкалоидов из корневищ кубышки желтой семейства кувшинковых. Один из алкалоидов в составе лютенурина – нуфлеина бисангидродигидрохлорид (нуфлеин) – был выделен и очищен, выявлено его бактериостатическое действие на трихомонады, высокая активность в отношении грамположительных микробов и патогенных грибов типа кандида. Исходя из этих данных, было выдвинуто предположение о наличии цитостатической активности у нуфлеина.

Цель исследования – анализ цитостатической активности нуфлеина на клетках рака шейки матки человека HeLa и фибробластах кожи крыс в сравнении с цисплатином.

Материалы и методы. Для оценки цитотоксического действия нуфлеина инкубировали клетки в течение 48 ч в присутствии различных концентраций препарата (диапазон 10^{-9}–10^{-2} М). Жизнеспособность клеток оценивали методом МТТ. Параметр IC_{50} – концентрацию препарата, вызывающую гибель 50 % клеток, – определяли с помощью программы Graphpad Prism 6.0.

Результаты. Нуфлеин эффективно подавляет жизнеспособность клеток Hela с $IC_{50} = 2{,}9 \times 10^{-8}$ М, в то время как цисплатин в таких же условиях менее эффективен ($IC_{50} = 6{,}2 \times 10^{-6}$ М). На модели нормальных клеток – фибробластов кожи крыс IC_{50} для нуфлеина и цисплатина составили $1{,}94 \times 10^{-6}$ и $1{,}47 \times 10^{-5}$ М соответственно.

Заключение. Нуфлеин обладает высокой цитостатической активностью на клетках рака шейки матки человека, превосходящей активность цисплатина в 200 раз. На нормальных клетках нуфлеин оказывал в 100 раз менее выраженное цитотоксическое действие, чем на опухолевых клетках, что очень ценно в плане повышения избирательности химиотерапии опухолей.

Н.В. Филатова, В.А. Мумятова, А.А. Балакина, В.Д. Сень, А.А. Терентьев

ДИНАМИКА ЭКСПРЕССИИ И ЯДЕРНОЙ ТРАНСЛОКАЦИИ БЕЛКА P53 ПРИ ДЕЙСТВИИ КОМПЛЕКСОВ ПЛАТИНЫ

ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область

Введение. Опухолевый супрессор белок p53 регулирует транскрипцию ряда генов, продукты которых вовлечены в регуляцию клеточного цикла, репарацию ДНК, апоптоз, ингибирование ангиогенеза.

Цель исследования – изучить динамику экспрессии и ядерной транслокации белка p53 в опухолевых клетках MCF-7 (аденокарцинома молочной железы человека) при действии аминонитроксильных комплексов платины (IV) (ВС118 – *e*-аммин-*d*-(4-амино-2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил)-*a,f*-бис(ацетат)-*b,c*-дихлороплатина (IV); ВС146 – *e*-аммин-*d*-(4-амино-2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил)-*a,f*-бис(бутаноато)-*b,c*-дихлороплатина (IV); ВС131 – *e*-аммин-*d*-(4-амино-2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил)-*a,f*-бис(пентаноато)-*b,c*-дихлороплатина (IV); ВС149 – *e*-аммин-*d*-(3-амино-2,2,5,5-тетраметилпирролидин-1-оксил)-*a,f*-бис(бутаноато)-*b,c*-дихлороплатина (IV).

Материалы и методы. Экспрессию белка p53 определяли с помощью денатурирующего электрофореза белков в полиакриламидном геле с последующим иммуноблоттингом. В качестве препаратов сравнения исследовали цисплатин и сатраплатин. Цисплатин, сатраплатин и аминонитроксильные комплексы платины (IV) наносили в концентрации, вызывающей гибель 50 % клеток, с экспозицией 6–24 ч.

Результаты. Обнаружено, что при действии всех исследуемых соединений максимум накопления белка p53 наблюдается после 12 ч действия комплекса. Накопление p53 в ядрах начинается уже после 6 ч экспозиции и снижается к 24 ч. Максимум накопления белка p53 в цитозоле наблюдается после 12–18 ч. Все изученные комплексы платины показали сходное действие на процесс внутриклеточного накопления p53, однако характер распределения белка между цитозолем и ядром при действии разных комплексов различается. Так, при действии цисплатина белок p53 появляется в цитоплазме через 12 ч и через 18 ч после введения обнаруживается слабо. Сходная динамика была обнаружена для сатраплатина и комплекса ВС149. При действии комплексов ВС118, ВС146 и ВС131 максимум проявления белка p53 в цитозоле приходится на 12 ч после введения.

Заключение. Динамика накопления белка p53 в ядре сходна для разных комплексов платины, однако его экспрессия в цитозоле при этом различна. Это свидетельствует о разной динамике синтеза белка p53 в ходе клеточного ответа на действие комплексов платины разной структуры.

Е.В. Филоненко, О.В. Чулкова, Л.Г. Серова

ВОЗМОЖНОСТИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ ДИСТРОФИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ НЕОПЛАЗИЙ И РАКА ВУЛЬВЫ

МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ НМИРЦ Минздрава России, Москва

Введение. Злокачественные опухоли вульвы занимают 4-е место и составляют 2,5–5,0 % злокачественных онкогинекологических заболеваний. Средний возраст больных раком вульвы составляет 67,0 ± 1,5 года. Включение фотодинамической терапии (ФДТ) в арсенал хирургических методов лечения в гинекологии расширило возможности радикальной и одновременно органосохраняющей терапии заболеваний вульвы.

Цель исследования – изучение эффективности ФДТ у пациенток с предраком и раком вульвы.

Материалы и методы. ФДТ была проведена 42 пациенткам с доброкачественными заболеваниями, предраком

(так называемые интраэпителиальные неоплазии вульвы) и раком вульвы. Из них у 13 (30,9 %) пациенток был диагностирован крауроз вульвы, у 8 (19,1 %) – интраэпителиальные неоплазии вульвы I–III степени, у 21 (50 %) – плоскоклеточный рак. Все пациентки были разделены на 2 группы: в 1-й (n = 29) препарат на основе хлорина е6 (фотолон) вводили внутривенно капельно в дозе 1 мг/кг массы тела; во 2-й (n = 13) препарат на основе 5-аминолевулиновой кислоты (аласенс) наносили аппликационно в виде 20 % мази. Длительность лечения составляла 20–40 мин. Плотность энергии – 100–350 Дж/см.

Результаты. Лечебный эффект после ФДТ при патологии вульвы оценивался визуально, субъективно (отсутствие жалоб на зуд) и по данным цитологического или морфологического исследования через 3–6 мес после ФДТ. Положительный лечебный эффект был достигнут у всех пациенток через 3 мес. Полная клиническая ремиссия через 1 год после проведения сеанса ФДТ была достигнута у 40 (95,2 %) больных. У 2 (4,7 %) пациенток было проведено повторное лечение в связи с рецидивом заболевания. У 1 пациентки с диагнозом дисплазии вульвы III степени через 1 год по данным гистологического исследования диагностирована дисплазия вульвы II степени, и у 1 больной с дистрофическим заболеванием вульвы (крауроз) через 6 мес зарегистрированы клинические проявления болезни (зуд) и гиперкератоз плоского эпителия по данным гистологического исследования. Побочные проявления заключались в болевом синдроме после проведения ФДТ, который купировался приемом нестероидных противовоспалительных средств.

Заключение. Таким образом, полученные результаты ФДТ с использованием препаратов фотолон и аласенс при лечении пациенток с дистрофическим изменениями, интраэпителиальными неоплазиями и раком вульвы показали высокую лечебную эффективность с минимальным количеством побочных эффектов и отсутствием осложнений после проведенного лечения. Метод ФДТ позволил выполнить органосохраняющее лечение у больных с заболеваниями вульвы без ухудшения качества их жизни.

А.А. Фильченков[1], М.П. Завелевич[1], С.Л. Рыбалко[2], Д.Б. Федорченко[2], Д.Ю. Блохин[3]

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ВИРУСАМ РАЗНЫХ ТАКСОНОМИЧЕСКИХ ГРУПП КЛЕТОК JURKAT/A4 С ФЕНОТИПОМ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ

[1]ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев, Украина;
[2]НИИ эпидемиологии и инфекционных заболеваний АМН Украины, Киев, Украина;
[3]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. В лейкозных клетках с фенотипом множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) апоптотический ответ при действии химиотерапевтических препаратов существенно снижен. Использование моделей лейкозных клеток со стабильным фенотипом МЛУ позволяет анализировать механизмы, препятствующие запуску в них программы апоптоза. Вместе с тем апоптоз, как известно, является одним из механизмов цитопатогенного действия многих вирусов. Определение чувствительности к вирусам клеток с фенотипом МЛУ позволяет расширить наши представления о роли различных компонентов системы апоптоза как в реализации МЛУ, так и в развитии цитопатогенного эффекта при действии вирусов.

Цель исследования – сравнить чувствительность клеток линии Jurkat и ее клональной сублинии Jurkat/A4 с фенотипом МЛУ к вирусу простого герпеса (ВПГ), вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ) и вирусу диареи крупного рогатого скота (BVDV).

Материалы и методы. Линии клеток Jurkat, Vero, MT-4 и MDBK получены из банка клеточных линий ИЭПОР НАНУ. Клональная сублиния Jurkat/A4, полученная селекцией при действии на клетки Jurkat агонистических анти-CD95-антител, была предоставлена авторами. В работе использованы штамм ВН ВПГ 2-го типа и ВИЧ-1, продуцируемый клетками культуры МТ4/BIII (НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского), BVDV (Институт ветеринарной медицины УААН). Вирусами заражали культуры Jurkat и Jurkat/A4, после чего определяли титр вирусов по цитопатогенному действию на чувствительных линиях клеток Vero (для ВПГ через 72 ч) и MDBK (для BVDV через 24 ч). О репродукции ВИЧ судили по уровню p24 в культуральной жидкости, после чего определяли инфекционный титр ВИЧ на чувствительных клетках МТ-4 на 5-е сутки. Содержание гиподиплоидных клеток и клеток с активной формой каспазы-3 определяли с помощью цитофлуориметра FACSCalibur (Becton Dickinson, США) и набора Caspase-3, Active Form, mAb Apoptosis Kit: FITC (BD Bioscience Pharmingen, США).

Результаты. Инфекционные титры исследуемых вирусов оказались следующими: ВПГ – 4,0 lgID50 в клетках Jurkat и 5,5 lgID50 в клетках Jurkat/A4; BVDV – 3,0 lgID50 в клетках Jurkat и 4,0 lgID50 в клетках Jurkat/A4; ВИЧ – 3,0lgID50 в клетках Jurkat и 3,0 lgID50 в клетках Jurkat/A4. Инфицирование ВПГ увеличивало содержание гиподиплоидных клеток и клеток с активной формой каспазы-3 в равной степени в линиях Jurkat и Jurkat/A4.

Заключение. Клетки Jurkat и Jurkat/A4 оказались чувствительными к инфицированию ВПГ, ВИЧ и BVDV. При этом клетки Jurkat/A4 с фенотипом МЛУ более чувствительны к инфицированию ВПГ и BVDV в сравнении с клетками исходной линии Jurkat. Индукция каспазозависимой гибели клеток Jurkat/A4 при продуктивной инфекции ВПГ свидетельствует об активации в них эффекторных механизмов апоптоза.

Ю.П. Финашутина, В.А. Мисюрин, Е.Н. Пушкова, Н.А. Лыжко, В.В. Тихонова, О.Н. Солопова, А.В. Мисюрин

ЭКСПРЕССИЯ И ОЧИСТКА РЕКОМБИНАНТНОГО РАКОВО-ТЕСТИКУЛЯРНОГО АНТИГЕНА GAGE1

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Белки семейства GAGE насчитывают около 16 членов и относятся к раково-тестикулярным антигенам, экспрессирующимся в различных опухолях. Экспрессия белков GAGE у здоровых людей происходит только в семенниках, однако было обнаружено, что активация экспрессии группы генов *GAGE* может происходить при различных раковых заболеваниях, и их экспрессия коррелирует с плохим прогнозом у больных раком желудка, раком пи-

щевода и нейробластомой. Пептиды этих белков распознаются цитотоксическими Т-лимфоцитами в комплексе с молекулой HLA. Кроме того, антитела к белкам семейства GAGE обнаруживаются в сыворотке больных меланомой, раком толстой кишки и Т-клеточными лимфомами. Таким образом, белки GAGE могут быть подходящими мишенями для специфической иммунотерапии. Разработка препаратов рекомбинантных белков является перспективным направлением в иммунотерапии, так как в отличии от пептидов полноразмерные белки могут стимулировать как CD4-, так и CD8-лимфоциты, и не зависят от подтипа HLA пациента.

Цель исследования – получить высокоочищенный рекомбинантный раково-тестикулярный белок GAGE1.

Материалы и методы. Кодирующая последовательность гена была получена с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией; в качестве матрицы использовали выделенную рибонуклеиновую кислоту из линии клеток эритромиелоидного лейкоза K562. Кодирующая последовательность гена была клонирована в плазмиду pET-30a, и белок был экспрессирован в штамме *Escherichia coli* BL21 (DE3) pLysS. Нуклеотидная последовательность всех элементов плазмиды и гена *GAGE1* подтверждена секвенированием. Рекомбинантный белок GAGE1 был очищен с помощью металл-аффинной хроматографии.

Результаты. Нами была получена плазмида для экспрессии гена *GAGE1* в бактериальных клетках на основе вектора pET-30a. Рекомбинантный белок GAGE1 был экспрессирован под контролем индуцируемого промотора в суспензионной культуре клеток *E. coli*. Были подобраны условия для оптимальной экспрессии и очистки белка из бактериальных клеток. Выход целевого продукта составил 6 мг/л бактериальной культуры. Согласно данным электрофореза, масса полученного продукта составила примерно 24 кДа, что соотвествует массе природного белка GAGE1. Чистота рекомбинантного белка также оценивалась по электрофореграмме и составила 95 %.

Заключение. Получен бактериальный продуцент рекомбинантного человеческого антигена GAGE1. Очищенный белок GAGE1 может быть использован для широкого спектра исследований в онкологии и иммунологии, например для получения специфических антител. На основе рекомбинантного белка GAGE1 можно создавать противоопухолевые вакцины с применением адъювантов или дендритных клеток. Кроме того, с помощью этого белка можно оценивать специфический гуморальный ответ в сыворотке крови онкологических больных.

Ю.М. Фоменко[1], Н.А. Кабилдина[1], И.М. Омарова[2], Г.Х. Тулеуова[3], С.С. Жумакаева[1], В.Б. Сирота[1]

НЕПОСРЕДСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ АРГЛАБИНА ПРИ МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННОМ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

[1]КГМУ, Караганда, Казахстан;
[2]КГП «Областной онкологический диспансер», Караганда, Казахстан;
[3]АО МНПХ «Фитохимия», Караганда, Казахстан

Цель исследования – повышение степени доказательности клинической эффективности препарата арглабин путем проведения рандомизированного клинического исследования.

Материалы и методы. В исследование включены 93 пациента с местно-распространенным раком молочной железы (МРРМЖ) с гистологической и иммуногистохимической верификацией в возрасте от 30 до 75 лет. Все больные разделены на 3 группы: 2 исследуемые, 1 контрольная. В контрольной группе 36 пациентам проводили 4 курса неоадъювантной химиотерапии (ХТ) по схеме АС (доксорубицин – 50 мг/м^2, циклофосфан – 500 мг/м^2) каждые 21 день, радикальную мастэктомию, 4 курса адъювантной ХТ (АС), лучевую терапию и гормональную терапию по показаниям. Исследуемая группа 1 (n = 30) получала лечение по аналогичной схеме, только режим ХТ (АС) сочетался с арглабином (арглабин 370 мг/м^2 в течение 7 дней). Исследуемая группа 2 (n = 27) получала лечение по аналогичной схеме, но в неоадъювантном и адъювантном режиме применяли монотерапию арглабином. Клиническую эффективность оценивали по критериям Всемирной организации здравоохранения.

Результаты. Частичный ответ опухоли у больных после ПХТ по схеме АС наблюдали в 58,3 ± 8,2 %, после АС с арглабином – в 63,3 ± 8,8 %, после монотерапии арглабином – в 25,9 ± 8,4 % случаев ($p \geq 0{,}05$); стабилизацию опухоли соответственно в 38,9 ± 8,1 %, 33,3 ± 8,6 %, 51,9 ± 9,6 %. Степень регрессии опухоли у больных МРРМЖ составила после ХТ по схеме АС 54,6 ± 6,9 %, после АС с арглабином – 57,1 ± 7,9 %, после монотерапии арглабином – 10,0 ± 15,1 %. Степень регрессии метастатических подмышечных лимфатических узлов у пациентов после неоадъювантной терапии по схеме АС составила 39,6 ± 7,0 %, после АС с арглабином – 63,7 ± 14,1 %, после монотерапии арглабином – 2,9 ± 20,2 %. В контрольной группе лекарственный патоморфоз опухоли III и IV степени имели 25 % больных, после неоадъювантной ХТ по схеме АС + арглабин – 33,3 %, после монотерапии арглабином – 14,8 %.

Заключение. Наблюдается общая положительная динамика регрессии опухоли и лимфатических узлов после неоадъювантной ПХТ при ее комбинации с арглабином у больных МРРМЖ.

Д.С. Хачатрян[1], В.А. Мисюрин[2], М.А. Барышникова[1, 2], В.Н. Осипов[1, 2], А.Н. Балаев[1], А.В. Колотаев[1], К.Р. Матевосян[3]

СИНТЕЗ И ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ СВОЙСТВА НОВЫХ 1,2-ДИГИДРО-4-ХИНАЗОЛИНОНОВ

[1]ФГУП «ИРЕА», Москва;
[2]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;
[3]ФГБОУ ВО «РХТУ им. Д.И. Менделеева», Москва

Введение. Интерес к синтезу и изучению свойств производных хиназолинона в последние десятилетия объясняется их разноплановой биологической активностью. В частности, ранее синтезированые Khan-0101 и Khan-0140 подтвердили такую мультиактивность. Соединения SMR000040130 ингибировали рост клеток рака легкого, но при этом проявляли кардио- и нейротоксичность. Ряд полученных 2,3-дигидрохиназолин-4(1H)-онов активны в отношении опухолевых линий клеток HepG2, MCF-7; некоторые производные изоиндоло[2,1-a]-хиназолина являются ингибиторами фак-

тора некроза опухоли α. Поэтому разработка удобных методов получения и синтез новых производных 1,2-дигидро-4(3H)-хиназолинонов остается актуальной задачей в настоящее время.

Цель исследования – синтез и оценка *in vitro* противоопухолевой активности новых производных 1,2-дигидро-4-хиназолинонов, являющихся аналогами природных алкалоидов.

Материалы и методы. Для оценки противоопухолевой активности использовали МТТ-тест. Исследование проводили на клеточных линиях опухолей человека: карциноме толстой кишки HCT116, карциноме простаты PC3, карциноме легкого A549, аденокарциноме молочной железы MCF7, Т-клеточном лимфобластном лейкозе Jurkat, полученных из Банка клеточных линий РОНЦ им. Н.Н. Блохина. Активными считали соединения, у которых IC_{50} была меньше или равна 100 мкМ.

Результаты. В результате проведенных исследований был разработан препаративный метод синтеза ряда производных хиназолинона (более 200 структур) реакцией конденсации полученных ранее амидов антраниловой кислоты (более 20 производных) с (гетеро)-ароматическими альдегидами. Необходимые альдегиды получали хлорметилированием анисового альдегида с последующей заменой атома хлора O-, N-, S-нуклеофилами. Исследование цитотоксической активности показало, что соединение Khan-0120 в концентрации 100 мкМ ингибировало рост клеток линии MCF7 на 92 %.

Заключение. Нахождение цитотоксически активных веществ в ряду синтезированных 1,2-дигидро-4(3H)-хиназолинонов говорит о перспективности данного направления исследований. Соединения, у которых обнаружена противоопухолевая активность *in vitro*, будут исследованы для подтверждения противоопухолевого эффекта на перевиваемых опухолях экспериментальных животных *in vivo* и в случае положительного результата будут предложены для проведения доклинических исследований в целях создания новых противоопухолевых препаратов.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках Соглашения № 14.576.21.0044 от 05.08.14 (RFMEFI57614X0044).

А. Хашем[1], А.А. Матюшин[1], А.О. Райков[1],
М.А. Барышникова[2], В.С. Косоруков[2], И.И. Краснюк[1]

РАЗРАБОТКА ИММУНОЛИПОСОМ, НАГРУЖЕННЫХ ФОТОСЕНСОМ

[1]ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва;
[2]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Фотосенс применяется для фотодинамической терапии целого ряда опухолей, однако высокая эффективность лекарственной формы Фотосенса сочетается с достаточно высокой фототоксичностью. Иммунолипосомальная лекарственная форма способствует направленной доставке препаратов к опухолевым клеткам-мишеням, благодаря чему снижается их токсичность и увеличивается селективность действия.

Цель исследования – разработка анти-Her2-иммунолипосомальной лекарственной формы Фотосенса для снижения фототоксичности и увеличения избирательности действия препарата.

Материалы и методы. Субстанция Фотосенса («НИОПИК»), яичный фосфатидилхолин, холестерин, DSPE-PEG-2000 (Lipoid), pNP-PEG-3000-lipid. Гуманизированные моноклональные антитела анти-Her2/neu были получены в лаборатории трансгенных препаратов НИИ ЭДиТО РОНЦ им. Н.Н. Блохина.

Результаты. Липосомы получали методом обращения фаз из фосфатидилхолина, холестерина, DSPE-PEG-2000 и pNP-PEG-3000-lipid. Липидную пленку снимали водным раствором Фотосенса и полученную дисперсию последовательно пропускали через поликарбонатные мембранные фильтры с диаметром пор 400, 200 и 100 нм на ручном мини-экструдере. Моноклональные антитела Her2 присоединяли к pNP-PEG-3000-lipid, включенному в состав липосом исходя из мольного соотношения белок/pNP-PEG3000-lipid 1:40 при pH 8,3, температуре 4 °C в течение 12 ч. Проводили очистку полученных иммунолипосом методом гель-фильтрации. Диаметр иммунолипосом определяли с помощью прибора Nicomp 380 Submicron Partical Sizer. Специфическое связывание полученных иммунолипосом с Her2-положительными клетками рака молочной железы оценивали в реакции иммунофлуоресценции с помощью проточной цитофлуориметрии.

Заключение. Получены иммунолипосомы диаметром 120 ± 5 нм, содержащие 6 мг/мл Фотосенса. Включение Фотосенса в иммунолипосомы составило 61 %. После инкубации Her2-положительных клеток молочной железы человека линии SK-BR-3 с иммунолипосомальным Фотосенсом регистрировали 95 % связывание иммунолипосом с клетками-мишенями.

Т.С. Хлыстова[1], Н.Д. Олтаржевская[1],
И.А. Эйзенах[2], И.М. Липатова[3]

ЛЕЧЕБНЫЕ ГИДРОГЕЛЕВЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ НАПРАВЛЕННОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ В ОНКОУРОЛОГИИ

[1]ООО «КОЛЕТЕКС», Москва;
[2]МБЛПУ «ГКБ № 1», Новокузнецк;
[3]ФГБУН «ИХР им. Г.А. Крестова», Иваново

Введение. При онкологических заболеваниях в области малого таза в большинстве случаев вовлекаются в патологический процесс органы мочевыделительной системы. Их терапия вызывает большие трудности. Высокую эффективность при лечении циститов, в том числе лучевых, показали гидрогелевые материалы для направленной доставки лекарственных препаратов (ЛП) на основе биополимера альгината натрия «Колегель» с деринатом и лидокаином и «Колегель» с диоксидином и лидокаином. С учетом положительных результатов внутрипузырной терапии циститов солями гиалуроновой кислоты, было предложено объединение лечебных свойств альгината (АН) и гиалуроната натрия (ГН) в одном материале.

Цель исследования – создание лечебного гидрогелевого материала для внутрипузырного подведения ЛП с повышенной биологической активностью, достигаемой за счет использования 2 биополимеров – АН и ГН (входящий в состав уротелия), с хорошими защитными (адгезивными)

свойствами по отношению к уротелию, обладающего пролонгированным лечебным действием и способствующего восстановлению защитных функций стенок мочевого пузыря.

Материалы и методы. В эксперименте использовали лечебные гидрогели, в состав которых помимо основного полимера АН и ЛП дополнительно введен ГН. Оценивалось влияние полимерного состава на адгезивные свойства гидрогеля на изолированных мочевых пузырях самцов капюшонных крыс. На стенки образцов пузырей крыс наносили гидрогель, проводили смыв, имитирующий контакт с биологической жидкостью, и окрашивание красителем C.I. reactive Blu 21, способным связываться с белковой составляющей. Отсутствие окрашивания свидетельствовало о наличии защитного полимерного слоя.

Результаты. Использование гидрогелей на основе 2 биополимеров АН и ГН увеличивает время контакта гидрогеля и введенных ЛП с поврежденными тканями за счет увеличения адгезии полимеров к уротелию и снижения скорости растворения биологической жидкостью. Образование защитного слоя на стенке органа способствует пролонгации лечебного действия (через 2 ч контакта с жидкостью концентрация полимеров не менее 35,0 % от нанесенного, при использовании только ГН концентрация 2,0 %). АН обеспечивает гемостатические и адгезивные свойства, а введение ГН позволяет повысить биологическую активность гидрогелей и способствует восстановлению защитных функций стенок мочевого пузыря. Реологические свойства гидрогеля удобны для его введения через катетер с помощью преднаполненного шприца. Разработанный состав на основе АН и ГН прошел токсикологические испытания. Успешные клинические испытания доказали эффективность использования гидрогеля «Колегель» с АН и ГН при лечении циститов.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности применения рассматриваемых лечебных гидрогелей для профилактики и лечения лучевых повреждений в онкоурологии.

Ю.А. Хоченкова, Ю.С. Мачкова, О.О. Рябая, Е.В. Степанова, Д.А. Хоченков

ЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТА РЕФНОТ В КОМБИНАЦИИ С БОРТЕЗОМИБОМ НА КЛЕТОЧНЫЕ ЛИНИИ МЕЛАНОМЫ ЧЕЛОВЕКА *IN VITRO*

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Препарат Рефнот (фактор некроза опухолитимозин α – TNFα) проявил уникальные иммуномодулирующие свойства у онкологических больных. Его особенность заключается в положительном воздействии одновременно на Т- и NK-клетки, являющиеся ведущими популяциями противоопухолевого иммунитета. Рефнот также блокирует факторы, ассоциированные с пролиферацией и метастазированием меланомных клеток. NF-κB может выступать стимулятором опухолевого роста, блокирование активности данного белка, ассоциированной с использованием Рефнота, может повысить эффективность лечения больных меланомой (ММ).

Цель исследования – изучить эффективность комбинаций Рефнота с ингибитором активности 26S-протеасомы – бортезомибом и роль NF-κB в качестве посредника цитотоксических эффектов бортезомиба.

Материалы и методы. Исследование проводили на линиях меланомы человека Mel Z, Mel Mtp, Mel Ksen и Mel Rac, полученных в РОНЦ им. Н.Н. Блохина. Цитотоксичность оценивали посредством МТТ-теста. Для изучения механизма действия Рефнота был проведен анализ транскриптома клеточных линий до и после обработки препаратом путем секвенирования на платформе HiSeq 2000 в режиме одиночных прочтений длиной 50 нукл. Анализ генных сетей проведен с применением ресурса GeneMANIA и STRING. Активацию транскрипционного фактора NF-κB определяли методом иммуноцитохимии, оценку проводили на клеточном анализаторе InCell Analyzer 6000.

Результаты. Бортезомиб проявлял токсичность в отношении клеточных линий ММ (IC_{50} 4,3 ± 2,9 мкМ, $p < 0,05$). Клеточная линия Mel Ksen, несущая мутацию B-RAF^{V600E}, оказалась наиболее чувствительной к действию препарата (IC_{50} 0,04 мкМ, $p < 0,05$). Коинкубация клеточных линий с бортезомибом и Рефнотом не приводила к увеличению цитотоксичности. Транскриптомный анализ показал, что инкубация клеток с Рефнотом вела к активации пути TNFα с одновременной активацией NF-κB, поэтому мы исследовали качественное изменение экспрессии. Активация NF-κB происходила при концентрации Рефнота 10 ЕД/мл. При этом ее уровень зависел от времени воздействия препарата. У клеточной линии Mel Z (B-RAF^{V600E}) через 6 ч инкубации с Рефнотом 10 ЕД/мл уровень NF-κB повышался в 1,6 раза по сравнению с 1-часовой (536 % vs 336 % соответственно), а у линии Mel Ksen (B-RAF^{V600E}) – в 100 раз (586 % vs 5,2 % соответственно). Интересно, что у линий с диким типом гена *B-RAF* (Mel Rac и Mel Mtp), наоборот, максимальная активация NF-κB отмечалась при 1-часовой ко-инкубации с бортезомибом и Рефнотом, а к 6 ч происходило снижение экспрессии (746 % vs 196 % – для Mel Rac, 585 % vs 246 % – для Mel Mtp).

Заключение. Таким образом, комбинированное применение бортезомиба с Рефнотом вызывает активацию NF-κB; более выраженное действие было установлено в случае линий ММ с мутацией B-RAF^{V600E}.

Работа поддержана грантом РНФ № 14-35-00107 от 17.09.2014.

Д.А. Церковский, Ю.П. Истомин

ВЛИЯНИЕ СОНО-ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ С ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОМ ФОТОЛОН НА ИНТЕНСИВНОСТЬ МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ ЭПИДЕРМОИДНОЙ КАРЦИНОМЫ ЛЕГКОГО ЛЬЮИС У МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BLACK

ГУ «РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова», агрогородок Лесной, Республика Беларусь

Введение. Исследование антиметастатической эффективности соно-фотодинамической терапии (СФДТ) является актуальным направлением исследований в экспериментальной онкологии.

Цель исследования – изучение противоопухолевого и антиметастатического эффектов СФДТ с фотосенсибилизатором (ФС) фотолон у мышей линии C57Black с эпидермоидной карциномой легкого Льюис.

Материалы и методы. Исследования выполнены на 64 мышах-самках линии C57Black с перевитой подкожно опухолью. ФС фотолон (РУП «Белмедпрепараты», Республика Беларусь) вводили внутрибрюшинно в дозе 5,0 мг/кг. Ультразвуковое (сонодинамическая терапия, СДТ) воздействие осуществлялось с помощью аппарата (Phyaction U, Gymna Uniphy) в непрерывном режиме работы через 3 ч после введения фотолона с параметрами: 1,1 и 3 МГц; 1,5 Вт/см^2; 5 мин. Фотооблучение (ФО) опухолей проводили непосредственно после СДТ (UPL PDT, Lemt, длина волны 660 ± 5 нм) с параметрами: 50 Дж/см^2; 250 мВт; 3 мин). Животные были распределены на 6 групп: контроль (n = 14); СДТ 1,1 МГц (n = 10); СДТ 3 МГц (n = 10); ФДТ (n = 10); СДТ 1,1 МГц + ФДТ (n = 10); СДТ 3 МГц + ФДТ (n = 10). Критерии оценки противоопухолевой эффективности: объем (V), масса (M) опухоли, коэффициент абсолютного прироста опухоли (K). Критерии оценки антиметастатического эффекта: частота метастазирования, среднее число метастазов, средняя масса легких с метастазами, степень поражения легких; индекс торможения метастазирования (ИТМ). Различия считались достоверными при значении $p < 0,05$.

Результаты. Наибольшим противоопухолевым и антиметастатическим эффектом обладает комбинированное ультразвуковое (1,1 МГц; 1,5 Вт/см^2) и лазерное воздействие (50 Дж/см^2). Коэффициент K составил 8,88 ± 2,93 и был достоверно ниже, чем в контроле (78,25 ± 18,57; p = 0,002) и группе СДТ 1,1 МГц (31,31 ± 9,03; p = 0,029). Определено сокращение числа метастазов в легких в 1,9 раза по сравнению с ФО ($p < 0,001$), в 1,67 раза – с СДТ (p = 0,03) и в 2,6 раза – с контролем ($p < 0,0001$). ИТМ в группах СДТ 1,1 и 3 МГц; ФДТ; СДТ 1,1 МГц + ФДТ и СДТ 3 МГц + ФДТ составил 35,54; 42,82; 26,88; 61,51 и 41,46 % соответственно. Степень поражения легких метастазами: отсутствие изменений IV и V степени, минимальное количество с III степенью поражения в группах комбинированного лечения.

Заключение. Полученные данные позволяют надеяться, что СФДТ с фотолоном может найти клиническое применение при лечении ряда нозологических форм злокачественных опухолей.

Д.А. Церковский, Е.А. Маслаков, Ю.Н. Грачев, Т.П. Артемьева, Ю.П. Истомин

СОНО-ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ С ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОМ ФОТОЛОН РЕЦИДИВНОЙ ФОРМЫ ГЛИОБЛАСТОМЫ GRADE IV (КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ)

ГУ «РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова», агрогородок Лесной, Республика Беларусь

Введение. Соно-фотодинамическая терапия – новое направление в лечении злокачественных глиом. В доступной литературе нами не найдено публикаций о клиническом применении метода в терапии злокачественных новообразований головного мозга.

Цель исследования – оценка переносимости, безопасности и непосредственных результатов клинической апробации метода интраоперационной соно-фотодинамической терапии (иСФДТ) с фотосенсибилизатором фотолон у пациента с рецидивной формой глиобластомы Grade IV.

Описание случая. *Пациент Х., 1957 г. р. В июне 2012 г. установлен диагноз: глиобластома Grade IV правой теменно-затылочной области головного мозга (морфологическое заключение: № 26801/12 от 23.07.2012). Проведенное лечение включало оперативное вмешательство (июнь 2012 г.), дистанционную лучевую терапию (суммарная очаговая доза 60 Гр) и 4 курса монохимиотерапии темозоломидом. В июне 2014 г. по данным МРТ установлено прогрессирование опухолевого процесса. Пациент госпитализирован в онкологическое нейрохирургическое отделение с палатами вертебрологии. 10.07.2014 выполнена операция (субтотальная резекция рецидивной опухоли); по окончании оперативного этапа внутривенно капельно в течение 30 мин введен раствор фотолона в дозе 2 мг/кг, по окончании инфузии операционная полость заполнена физиологическим раствором и осуществлено ультразвуковое воздействие (Phyaction USTH 91, GymnaUniphy N.V.) в непрерывном режиме с параметрами: 1,04 МГц; 0,7 Вт/см^2; 10 мин. На втором этапе проведено фотооблучение (UPL PDT, Lemt, длинна волны 660 ± 5 нм) ложа удаленной опухоли с параметрами: 50 Дж/см^2, 300 мВт, 27 мин. После выписки пациент получал монохимиотерапию Темобелом 310 мг/сут 1–7 день.*

Результаты. По данным мультиспиральной компьютерной томографии через 24 ч после операции патологии не выявлено. В течение всего срока пребывания пациента в стационаре серьезных нежелательных явлений (головная боль, отек головного мозга, внутричерепное кровоизлияние, судорожный синдром, инфекционные осложнения, кожная фототоксичность) отмечено не было (CTCAE, Version 4.0). При магнитно-резонансных исследованиях через 3 и 6 мес отмечена стабилизация опухолевого процесса. Период наблюдения с момента верификации диагноза до летального исхода составил 35 мес, с момента оперативного вмешательства и иСФДТ – 11 мес.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о безопасности, хорошей переносимости и эффективности метода иСФДТ с фотолоном.

В.А. Чалей, О.И. Коняева, Н.Ю. Кульбачевская, Н.П. Ермакова, А.А. Сергеев, К.А. Сережин, В.М. Бухман

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ОРМУСТИНА

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Новый препарат класса нитрозомочевин – Ормустин, синтезирован в ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН. В РОНЦ им. Н.Н. Блохина Минздрава России разработана лекарственная форма Ормустин, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций, 125 мг (ЛЛФО) и доказана ее эффективность.

Цель исследования – изучение субхронической токсичности ЛЛФО на крысах, изучение местно-раздражающего действия ЛЛФО на кроликах.

Материалы и методы. Исследование проведено на 40 здоровых неинбредных беспородных крысах-самцах, полученных из разведения РОНЦ им. Н.Н. Блохина. ЛЛФО вводили в рекомендованной концентрации 15,7 мг/мл (растворитель – 5 % раствор глюкозы) внутривенно ежедневно трехкратно в 3 дозах, рассчитанных, исходя из опыта по острой

токсичности на крысах: суммарные дозы 300 мг/кг ≈ 1,5 максимально переносимой дозы (МПД), 200 мг/кг ≈ 1 МПД и 100 мг/кг ≈ 1/2 МПД. Продолжительность наблюдения – 45 сут. Исследования местно-раздражающего действия ЛЛФО проведены на 42 кроликах породы шиншилла, полученных из ОПХ «Манихино». ЛЛФО вводили однократно в краевую вену уха кролика в рекомендованной концентрации 15,7 мг/мл и в 10 и в 20 раз меньшей.

Результаты. ЛЛФО при трехкратном ежедневном внутривенном применении не вызывала гибели животных, не оказывала влияния на общее состояние животных, не изменяла их поведенческие реакции. ЛЛФО вызывала дозозависимые снижение массы тела животных и аллопецию, уменьшение числа лейкоцитов на 3-и сутки опыта с восстановлением к 7-м суткам; в суммарной дозе 300 мг/кг – уменьшение числа тромбоцитов на 7–14-е сутки наблюдения с восстановлением к 21-м суткам. ЛЛФО вызывала дозозависимое нарушение барьерной функции печени (снижение уровня аланинаминотрансферазы на 3-и сутки наблюдения; в суммарной дозе 300 мг/кг – с неполным восстановлением к концу опыта). ЛЛФО в исследованных дозах оказывала влияние на функцию почек, вызывая на 3-и сутки опыта недозозависимое увеличение содержания мочевины с неполным восстановлением в суммарных дозах 200 и 100 мг/кг с дальнейшим ростом показателя в суммарной дозе 300 мг/кг к 45-м суткам. Кроме того, в суммарной дозе 300 мг/кг в анализе мочи крыс на 15-е и 45-е сутки наблюдения обнаружены гиалиновые цилиндры, а также отмечено увеличение относительной массы почек на 45-е сутки наблюдения. Препарат вызывал недозозависимые качественные изменения показателей электрокардиограммы, проявляющиеся нарушением сердечного ритма (желудочковой экстрасистолией) в суммарной дозе 100 мг/кг на 15-е и 30-е сутки опыта, и появлением патологического комплекса QS в суммарной дозе 300 мг/кг на 3-и и 30-е сутки наблюдения. ЛЛФО вызывала на 3-и сутки дозозависимое уменьшение относительной массы тимуса (с неполным восстановлением к концу опыта) и селезенки (с полным восстановлением к концу опыта). ЛЛФО обладает умеренным местно-раздражающим действием.

Заключение. Полученные результаты позволяют рекомендовать ЛЛФО для дальнейшего изучения.

А.А. Черепанов[1, 2], А.А. Липенгольц[1, 2], Е.Ю. Григорьева[1], А.В. Смирнова[1], В.Н. Кулаков[2]

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЯ КОНТРАСТНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ РАЗНЫХ СПОСОБОВ ВВЕДЕНИЯ НА МЫШАХ С ТРАНСПЛАНТИРОВАННЫМИ ОПУХОЛЯМИ *IN VIVO*

[1]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;
[2]ФГБУ ГНЦ «ФМБЦ им. А.И. Бурназяна», Москва

Введение. Для планирования и проведения экспериментальных исследований бинарной лучевой терапии с существующими контрастными препаратами для компьютерной томографии (КТ) и магнитно-резонансной томографии (МРТ) на лабораторных животных необходима инфомация о биораспределении применяемых препаратов и их динамики. Принципиальное значение имеет не только интегральное накопление препарата в органах или тканях, но и характер распределения препарата в конкретном органе. Для решения подобной задачи нами было проведено исследование распределения 2 контрастных препаратов для КТ и МРТ на мышах *in vivo* с помощью рентгеновской КТ.

Цель – провести исследование детального биораспределения и его динамики 2 контрастных препаратов у мышей с трансплантированными опухолями *in vivo* для 3 способов введения.

Материалы и методы. Было проведено исследование биораспределения рентгеноконтрастного препарата Ультравист-370 и магнитно-резонансного препарата Дипентаст на мышах. Были ипользованы мыши-самки линии C57Bl6 с трансплантированными подкожно в правую заднюю голень опухолями. Исследования проводились для 2 опухолей: меланомы B16F10 и аденокарциномы молочной железы Ca755. Исследования проводились на 9–10-е сутки после трансплантации. Были исследованы биораспределения для 3 способов введения: внутрибрюшинного, ретроорбитального и интратуморального. Препараты вводились однократной болюсной инъекцией в объеме 0,1 мл. Исследования проводились на визуализирующей системе IVIS. Томограммы животных снимались до введения препарата, сразу же после введения препарата и в течение 30 мин с интервалом 5 мин.

Результаты. Показано, что биораспределение исследованных контрастных препаратов зависит от способа введения. При ретроорбитальном введении оба препарата быстро поступали в кровенаполненные органы, включая опухоль. После чего наблюдалось выведение из крови с мочей и накопление препаратов в мочевом пузыре. При внутрибрюшинном введении оба препарата медленно всасывались из места введения. Большое количество препаратов наблюдалось в области брюшины и спустя 20 мин после введения. Регистрируемого накопления в опухолях не наблюдалось. При интратуморальном введении также происходило длительное удержание препаратов (более 20 мин) в тканях обеих опухолей и медленное выведение с мочей.

Заключение. Для проведения исследований бинарной лучевой терапии с существующими контрастными препаратами эффективным является ретроорбитальное/внутривенное введение контрастных препаратов.

Ж.Р. Черкасова[1], С.А. Цуркан[1], Г.Б. Смирнова[2], Ю.А. Борисова[2], Е.М. Трещалина[2]

ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРОВ К α-ФЕТОПРОТЕИНУ В ГОМОГЕНАТАХ ОПУХОЛЕЙ ЧЕЛОВЕКА SW620, T47D И В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК HEPG2 ИЗ КОЛЛЕКЦИИ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА

[1]ООО «ФармАксесс», Москва;
[2]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Развитие таргетной терапии злокачественных новообразований невозможно без адекватных моделей опухолевого роста *in vitro* и *in vivo*. В качестве значимых для прогноза эффективности используют, как правило, культуры клеток и/или перевиваемые опухоли человека, растущие в виде подкожных (п/к) ксенографтов у иммунодефицитных мышей. Определение специфической мишени

на таких моделях открывает возможность их использования при доклиническом изучении новых таргетных препаратов, в частности направленных на рецепторы к α-фетопротеину (АФП) (receptors for alfa fetoprotein, ReCAF).

Цель исследования – определение экспрессии ReCAF на опухолевых моделях, предлагаемых для доклинического изучения АФП-содержащих препаратов.

Задачи исследования. 1) Адаптация метода компетентного хемилюминесцентного анализа на специфических моноклональных антителах (МКА) для гомогенатов и культуры клеток опухолей человека; 2) количественное определение экспрессии ReCAF в опухолевых моделях.

Материалы и методы. Использовали гомогенаты п/к ксенографтов опухолей человека (рак молочной железы T47D, рак толстой кишки SW620) у Balb/c nude мышей и культуру клеток рака печени HepG2. Опухоли сонифицировали 30 с на льду ультразвуковым гомогенизатором (BILON-150Y, KHP) при 60 Вт (40 %) с последующим центрифугированием 10 мин при 13000 об/мин до получения однородных гомогенатов-супернатантов для иммунохемилюминесцентного анализа (ИХА). Для количественного определения ReCAF в гомогенатах использовали ранее разработанный ИХА «РЕКАФ», основанный на компетентном одностадийном анализе присутствующих в образце молекул АФП-рецептора с фиксированным количеством меченого конъюгата (АФП-рецептор – акридин) за связывание со специфическими МКА. Гомогенат нормальной ткани мыши служил отрицательным контролем, клеточная суспензия K-562 – положительным контролем. Наличие рецепторов АФП в гомогенатах опухолей подтверждали по стандартной методике Лэммли на полиакриламидном гель-электрофорезе и вестерн-блоттингом с использованием специфических МКА.

Результаты. Результаты ИХА показали, что в гомогенате T47D содержится 9152 Ед/мл, в гомогенате SW620–2839 Ед/мл, а в культуре клеток HepG2–4865 Ед/мл ReCAF. Видно, что количество ReCAF убывает в ряду T47D > HepG2 > SW620. В контрольных и тестируемых образцах по этой методике выявлено большое количество рецепторов с молекулярной массой 67 кДа, которые подтверждены на полиакриламидном гель-электрофорезе и иммунологически при помощи МКА.

Заключение. Таким образом, из протестированных моделей наиболее адекватной для доклинического изучения АФП-содержащих таргетных препаратов можно считать рак молочной железы человека T47D с аутокринным типом гормональной зависимости, дающий п/к ксенографты у иммунодефицитных мышей.

Ж.Р. Черкасова[1], С.А. Цуркан[1], Г.Б. Смирнова[2], Ю.А. Борисова[2], Е.М. Трещалина[2]

СПЕЦИФИЧНОСТЬ СВЯЗЫВАНИЯ ПРЕПАРАТА АИМПИЛА С РЕЦЕПТОРАМИ α-ФЕТОПРОТЕИНА НА ПОВЕХНОСТИ ОПУХОЛИ ЧЕЛОВЕКА T47D ИЗ КОЛЛЕКЦИИ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА

[1]ООО «ФНЦ «ФармАксесс», Москва;
[2]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Препарат Аимпила представляет собой запатентованный в РФ пероральный нековалентный комплекс, состоящий из транспортного белка α-фетопротеина (АФП) и известного индуктора апоптоза. Ранее показано, что препарат активен *in vivo* на подкожных (п/к) ксенографтах некоторых опухолей человека, экспрессирующих рецепторы АФП. Уровень ингибирования роста п/к опухолей сопряжен с уровнем экспрессии рецепторов в гомогенатах или суспензии опухолей. Наиболее чувствительным оказался рак молочной железы человека T47D/АФП$^{+++}$. Специфичность связывания препарата Аимпила с АФП-рецептором в опухоли ранее не изучали.

Цель исследования – определение специфичности связывания препарата Аимпила с рецепторами АФП в гомогенатах наиболее чувствительной модели опухоли человека.

Задачи исследования. 1) Разработка твердофазного иммунохемилюминесцентного анализа (ИХА) по типу «сэндвич» на специфических моноклональных антителах (МКА) для гомогенатов и культуры клеток опухолей человека; 2) количественное определение связывания препарата Аимпила с АФП-рецептором в п/к ксенографтах T47D/АФП$^{+++}$.

Материалы и методы. Для тестирования использовали конъюгат препарата Аимпила с акридином и гомогенат п/к ксенографтов рака молочной железы человека T47D/АФП$^{+++}$ у Balb/c nude мышей. Опухоль сонифицировали 30 с на льду ультразвуковым гомогенизатором (BILON-150Y, KHP) при 60 Вт (40 %) с последующим центрифугированием 10 мин при 13000 об/мин до получения однородных гомогенатов-супернатантов для проведения разработанного нами ИХА. Твердофазный ИХА с высокоспецифичными МКА типа IgM к рецептору АФП проводили в 2 стадии: 1) связывание молекул рецептора АФП в гомогенате T47D с МКА, иммобилизованными на твердой фазе, где серию разбавлений гомогената наносили вертикально на планшет с МКА и выдерживали 2 ч; 2) на иммобилизованном планшете горизонтально проводили двукратные разбавления люминесцентного конъюгата и измеряли результаты связывания на 96-микропланшетном флэш-люминометре Glomax (Promega, США) после часовой инкубации при комнатной температуре и тщательного промывания микропланшета.

Результаты. Конъюгат Аимпила – акридин в концентрации 800 нг/мл демонстрирует высокую специфичность связывания с АФП-рецепторами высокочувствительной к нему T47D/АФП$^{+++}$ независимо от разбавления гомогената. При этом максимальный эффект наблюдался при 10-кратном разбавлении гомогената T47D/АФП$^{+++}$ без «насыщения» центров связывания. Чувствительность системы ограничена степенью разбавления гомогената.

Заключение. Препарат Аимпила проявляет высокую специфичность связывания с рецепторами АФП в относительно низкой концентрации 800 нг/мл в чувствительной к нему опухоли – раке молочной железы T47D/АФП$^{+++}$. Увеличение специфичности связывания с рецептором до максимального «насыщения» системы возможно при увеличении концентрации Аимпила и плотности гомогената. Полученные данные позволяют предположить, что связанные с рецептор-опосредованным действием эффекты Аимпила будут проявляться в невысоких разовых дозах и дозозависимо.

Н.А. Чикаев, С.В. Кулемзин, А.А. Горчаков, В.В. Кузнецова, А.М. Сократян, О.Ю. Волкова, Л.В. Мечетина, А.В. Таранин

СОЗДАНИЕ ХИМЕРНЫХ АНТИГЕННЫХ РЕЦЕПТОРОВ РАЗЛИЧНОЙ СТРУКТУРЫ ДЛЯ АДАПТИВНОЙ Т-КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ИМКБ СО РАН, Новосибирск

Введение. Результаты исследований последних лет указывают на значительный потенциал CAR (chimeric antigen receptor) Т-клеточной терапии для элиминации раковых клеток с множественной устойчивостью. Вместе с тем эта технология находится на начальном этапе развития и нуждается в оптимизации различных ее составляющих при каждом конкретном онкозаболевании.

Цель исследования – сравнение активационных свойств различных вариантов CAR против маркеров рака предстательной железы PSCA и PSMA.

Материалы и методы. В ходе работы были созданы конструкции, кодирующие PSCA- и PSMA-специфичные CAR с различным модульным составом. В качестве шарнирных областей были использованы участки белка CD8a либо CH2 – CH3 домены тяжелой цепи IgG1 человека. Сигнальные области представлены цитоплазматическими последовательностями CD3z либо тандемом CD3z – CD28. С использованием полученных конструкций были созданы клеточные линии Jurkat, эктопически экспрессирующие соответствующие варианты CAR. Кроме того, на основе клеток 293T были получены моноклональные линии-мишени 293T-PSCA и 293T-PSMA. Степень активации клеток-эффекторов оценивали проточной цитометрией по уровню экспрессии поверхностного маркера CD69.

Результаты. Все исследованные варианты химерных антигенных рецепторов показали специфичное распознавание маркера-мишени (PSCA или PSMA) и отсутствие перекрестных реакций. Однако степень и скорость активации клеток-эффекторов существенно зависели от использованной шарнирной области и сигнальной части. В наиболее эффективной архитектуре (шарнир CH2 – CH3, сигнальная часть CD3z – CD28) признаки активации появлялись уже через 1 ч после контакта с клетками-мишенями, а максимальный уровень активации достигался через 4 ч после контакта. При инкубации с 10-кратным избытком клеток, не являющихся мишенями, активацию CAR-Т-клеток не детектировали.

Заключение. Химерные антигенные рецепторы обеспечивают высокую селективность и силу активации Т-лимфоцитов при взаимодействии с клетками, несущими PSCA и PSMA. Полученные данные и структурные варианты CAR будут использованы для поиска оптимальной стратегии CAR-Т-клеточной терапии на моделях ксенотрансплантации PSCA- и PSMA-экспрессирующих опухолей у мыши.

Работа выполнена при финансовой поддержке фундаментальных научных исследований по теме 0310-2014-0004 и гранта РФФИ № 16-04-00979.

Г.З. Чкадуа

ПОДХОДЫ К ИММУНОТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ

ФГБУ «РОНЦ им Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Несмотря на бурное развитие биотехнологий и большой мировой опыт иммунотерапии опухолей, клиническая эффективность данного метода лечения остается низкой. В основном это связано с неправильным пониманием такого явления, как «противоопухолевый иммунитет», которое возникло в экспериментальной онкологии и характеризовало способность иммунной системы животного бороться с перевиваемой опухолью. В опытах было показано вовлечение в борьбу с опухолью как врожденного, так и адаптивного иммунного ответа.

Цель исследования – поиск подходов, повышающих эффективность иммунотерапевтических методов лечения опухолей.

Материалы и методы. Цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ) получали при совместном культивировании лимфоцитов больного с дендритными клетками, нагруженными опухолевым лизатом.

Результаты. После доказательства развития специфического ответа на опухолевые антигены был сделан логичный вывод о возможности применения адаптивного иммунного ответа у онкологических больных, однако разница в эффективности между экспериментом и клиникой была колоссальна не в пользу последней. Можно долго сравнивать и искать отличия между опухолью больного и экспериментальной опухолью, но главное – это неверный посыл, что иммунная система способна бороться с развившейся опухолью. У организма нет программы борьбы с возникшей опухолью, в противном случае мы наблюдали бы самоизлечение от онкологических заболеваний. Таким образом, иммунная система способна предотвращать возникновение опухоли, за это отвечают клетки врожденного иммунитета (NK, NKT, δ/γ-лимфоциты), но не способна победить развившуюся опухоль. Тем не менее мы можем получить ЦТЛ против опухолевых антигенов, которые при определенных условиях способны уничтожить опухолевые клетки.

Заключение. Для эффективного использования ЦТЛ должно совпасть много условий: экспрессия опухолью антигенов, против которых были получены ЦТЛ; экспрессия главного комплекса гистосовместимости на поверхности опухолевых клеток; отсутствие супрессорных механизмов, спасающих опухоль от цитотоксического воздействия; подавление/уничтожение внутриопухолевых макрофагов, являющихся перехватчиками цитотоксической атаки и т. д. Из всего вышеперечисленного следует, что перед началом иммунотерапии необходимо подготавливать опухоль, чтобы введенные ЦТЛ могли оказать наибольшее воздействие.

В.И. Швец

БИОНАНОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ СОЗДАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НАПРАВЛЕННОГО ДЕЙСТВИЯ

МИТХТ им. М.В. Ломоносова, Москва

В докладе излагаются проблемы, посвященные методологии получения наноконтейнеров на основе липосом, полимеров на основе полибутилцианоакрилатов или полилактидов, сферических аморфных частиц из бересты, нанопористого кремния, их технологической загрузке классическими лекарственными препаратами в целях полу-

чения эффективных лекарственных средств нового поколения, изучению их физико-химических, биологических, фармакологических, технологических свойств для внедрения в практическую медицину при лечении социально значимых заболеваний.

Изложены современные представления о химическом и ферментативном синтезе, выделении из природных источников, создании промышленных технологий получения фосфолипидов различных молекулярных видов. Приведены данные об их строении, биологической, физиологической активности, фармакологических свойствах и возможности использования этих данных для конструирования лекарственных и диагностических препаратов, среди которых особое место отводится липосомальным препаратам. Рассмотрены биофармацевтические технологии на основе фосфолипидов и их применение в разработке медицинских препаратов нового поколения. Сообщаются последние сведения об использовании наноконтейнеров для загрузки классических лекарственных препаратов при создании современных эффективных лекарственных форм для улучшения результатов лечения, создания направленного транспорта к очагам патологии, снижения токсичности, пролонгации действия, повышения растворимости препаратов. Среди названных контейнеров особо выделяются липосомы, наносомальные полимерные формы на основе полибутилцианоакрилатов или полилактидов, сферические аморфные наночастицы из тритерпеноидов бересты, нанопористого кремния. Приведены данные по исследованию их биологических и фармакологических свойств. Представлено современное состояние исследований в этой области.

В.М. Шелепова, З.Г. Кадагидзе

ЗНАЧЕНИЕ CYFRA 21.1 В ДИАГНОСТИКЕ ПЕРЕХОДНО-КЛЕТОЧНОГО РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ И ВЕРХНИХ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Диагностика рака мочевого пузыря (РМП) является непростой задачей: лишь у 40 % больных диагноз устанавливается в течение месяца после обращения к врачу. Есть основания считать, что РМП сопряжен с предраковыми изменениями слизистой оболочки всех мочевых путей. При РМП *in situ* часто также находят рак *in situ* мочеточника или рак почечной лоханки (10–60 % случаев). Основным методом диагностики является цистоскопия, но у 9–20 % больных ее проведение невозможно. Цитологическое исследование осадка мочи отличается недостаточной чувствительностью, особенно при высоко- и умеренно-дифференцированных опухолях. Особенностью РМП является то, что более половины пациентов страдают от рецидивов, и им показано длительное наблюдение. Частые обследования, включающие цистоскопию и биопсию, относятся к дорогостоящим и болезненным процедурам. В связи с этим опухолевые маркеры являются перспективным неинвазивным методом в ранней диагностике и лечении РМП и рака верхних мочевыводящих путей (РВМП).

Цель исследования – изучение целесообразности определения уровня CYFRA 21.1 в моче для диагностики РВМП, РМП и его рецидивов.

Материалы и методы. Для определения диагностической значимости CYFRA 21.1 концентрацию маркера измеряли в образцах мочи, полученных от 105 пациентов, которые были разделены на 7 групп по 15 человек в каждой: 1-я – первичные больные РВМП; 2-я – первичные больные РМП; 3-я – пациенты без признаков заболевания после трансуретральной резекции по поводу РМП; 4-я – больные с рецидивами РМП; контрольные группы: 5-я – здоровые доноры; 6-я – пациенты с мочекаменной болезнью (МКБ); 7-я – больные злокачественными опухолями почки. CYFRA 21.1 определяли в образцах утренней мочи электрохемилюминесцентным методом. Результаты нормировались на креатинин мочи.

Результаты. У здоровых доноров среднее значение CYFRA 21.1 составляло 0,159 (0,034–0,328) нг/мкМ креатинина; у пациентов с МКБ – 0,619 (0,065–2,459); у больных раком почки – 0,313 (0,073–0,635); у пациентов с РВМП – 48,1 (0,241–457,63), у больных РМП – 2,226 (0,172–210,75). По сравнению с контрольной группой онкологические больные отличались достоверно более высокой концентрацией CYFRA 21.1. При дискриминационном уровне 0,65 нг/мкМ креатинина диагностическая специфичность теста составила 87 %, диагностическая чувствительность в отношении РВМП – 87 %, в отношении РМП – 76 %. В отношении рецидивов РМП диагностическая специфичность составила 82 %, чувствительность – 75 %.

Заключение. CYFRA 21.1 является полезным маркером в диагностике РВМП, а также РМП и его рецидивов. Он не может использоваться в самостоятельном варианте, но может служить дополнительным средством при обследовании людей с высоким риском или с симптомами уротелиального рака. У больных без признаков заболевания после трансуретральной резекции мониторинг на основе CYFRA 21.1 способствует снижению числа ненужных цистоскопий и раннему выявлению рецидива.

И.П. Шилов[1], Н.П. Ивановская[1], В.М. Маркушев[1], В.Д. Румянцева[1], К.С. Щамхалов[1], А.В. Иванов[2], С.А. Ивашов[1]

СПЕКТРАЛЬНО-ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ СВОЙСТВА НАНОКОМПОЗИТА НА ОСНОВЕ ИТТЕРБИЕВОГО КОМПЛЕКСА ПРОТОПОРФИРИНА IX И ЛЕКСАН-ПОЛИМЕРНОЙ МАТРИЦЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ НОВООБРАЗОВАНИЙ

[1]ФИРЭ им. В.А. Котельникова РАН, Фрязино, Московская область;
[2]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Иттербиевые комплексы порфиринов (ИКП) в последнее время привлекают все большее внимание исследователей, разрабатывающих люминесцентные способы детектирования злокачественных новообразований. Обладая, наряду с другими порфириновыми соединениями, достаточной туморотропностью, они в то же время имеют ряд преимуществ, главное из которых – снижение фотохимической активности. Однако недостатком этого вида металлопорфиринов является их сравнительно невысокая стабильность. Для увеличения диагностического потенциала ИКП необходимо повышать стабильность комплексов и изолировать их от тушащего действия водной среды.

Цель исследования – изучить влияние дополнительного комплексообразователя – триоктилфосфиноксида (ТОФО) и наличия полимерной матрицы типа лексан на спектрально-люминесцентные характеристики иттербиевого комплекса диметилового эфира протопорфирина IX (Yb-ДМЭ ПП IX).

Материалы и методы. Осуществляли синтез лексановых наночастиц, нагруженных Yb (acac) – ДМЭ ПП IX. Спектрально-кинетические характеристики в диапазоне 800–1060 нм получали с помощью измерительного стробоскопического стенда с возбуждением в видимом диапазоне спектра.

Результаты. Используемые для синтеза наночастиц соотношения органополимерной и водной фаз позволили получить частицы размером от 100 до 200 нм. Полидисперсность суспензий не превышала 11 %, средний диаметр частиц составил от 138 до 180 нм при изменении концентрации полимера от 100 до 200 мкг/мл реакционного объема. Спектр возбуждения люминесценции Yb^{3+} во всех исследованных системах представляет собой типичный спектр поглощения металлопорфирина. Спектры эмиссии наночастиц в ближнем инфракрасном диапазоне подтверждают, что в них сохраняется типичный для люминесценции ионов Yb^{3+} характер: наличие наиболее интенсивной полосы в области 980 нм и появление дополнительных полос в области 925 и 1010 нм. Интенсивность и время жизни люминесценции иона Yb^{3+} растут по мере увеличения содержания ТОФО в полимерной матрице при снижении красной флуоресценции свободного основания порфирина в диапазоне 600–720 нм.

Заключение. Синтезированы наночастицы на основе лексана – поликарбонатного бисфенольного полимера, с инкорпорированными в него иттербиевыми комплексами ДМЭ ПП IX. Показано, что включение ИКП в полимерную матрицу в присутствии дополнительного комплексообразователя ТОФО способствует увеличению интенсивности и времени жизни (вплоть до 17 мкс) люминесценции Yb^{3+} по сравнению со свободным комплексом. Размер синтезированных наночастиц (100–200 нм) предполагает возможность их предпочтительного накопления в опухолевой ткани вследствие проникновения через дефекты эндотелия кровеносных сосудов опухоли.

К.Е. Широких[1], Т.А. Федотчева[1], Н.Л. Шимановский[1], В.Н. Толкачев[2], В.М. Ржезников[3]

ПОВЫШЕНИЕ ЦИТОСТАТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЦИТЕСТРОЛА АЦЕТАТА ЗА СЧЕТ КОНЪЮГАЦИИ С НАНОЧАСТИЦАМИ МАГГЕМИТА

[1]ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва;
[2]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;
[3]ФГБУ ЭНЦ Минздрава России, Москва

Введение. Повышение избирательности действия противоопухолевых средств и создание таргетных противоопухолевых препаратов является приоритетным направлением в мировой фармакологии. Таргетного действия можно достигнуть путем конъюгации препарата с магнитоуправляемыми наночастицами железа, что позволяет создать локально высокую концентрацию цитостатика. Кроме того, конъюгация с наночастицами железа позволяет миновать трансмембранные белки множественной лекарственной устойчивости, а ионы железа способствуют индукции выработки активных форм кислорода и инициации апоптоза. В данной работе произведена конъюгация наночастиц маггемита с отечественным противоопухолевым соединением цитестрола ацетатом (ЦА) и оценено цитостатическое действие конъюгатов на модели клеток рака шейки матки человека HeLa.

Цель исследования – сравнительный анализ цитостатической активности ЦА и его комплексов с наночастицами оксида железа на модели рака шейки матки человека HeLa и действия комплексов на экспрессию митохондриальных белков апоптоза Bax и Bcl-2.

Материалы и методы. Цитотоксическую активность соединений после инкубации с клетками в течение 48 ч оценивали методом МТТ по параметру IC_{50} – концентрации соединения, вызывающей гибель 50 % клеток. Экспрессию мРНК белков Bax и Bcl-2 определяли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени на приборе BioRad IQ5 с интеркалятором SybrGreen.

Результаты. Цитотоксичность конъюгатов ЦА с наночастицами маггемита была в 4,6 раза выше, чем ЦА ($p < 0,05$). Экспрессия проапоптотического белка Bax в клетках HeLa при инкубации с конъюгатами увеличилась в 4,1 раза по сравнению с контролем, а экспрессия антиапоптотического белка Bcl-2 уменьшилась в 22,8 раза. ЦА как самостоятельный препарат увеличивал экспрессию проапоптотического белка Bax в 5,2 раза по сравнению с контролем, экспрессию антиапоптотического белка Bcl-2 понижал в 7,7 раза по сравнению с контролем.

Заключение. При конъюгации ЦА с наночастицами маггемита цитотоксичнось ЦА возрастает в 4,6 раза. Один из механизмов усиления цитостатического действия связан с увеличением подавления экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2.

Е.Д. Шишко[1], А.А. Фильченков[1], М.П. Завелевич[1], Д.Ю. Блохин[2], Н.Ф. Гамалея[1]

ВЛИЯНИЕ ПЛЮРОНИКА F127 НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ЛЕЙКОЗНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА К ФОТОДИНАМИЧЕСКОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ *IN VITRO*

[1]ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев, Украина;
[2]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Разработка подходов, направленных на преодоление или снижение устойчивости опухолевых клеток к фотодинамической терапии, в том числе с использованием амфифильных триблоковых сополимеров, ингибирующих выброс противоопухолевых препаратов через ABC-транспортеры, является новым направлением экспериментальной фотодинамической терапии. Ранее мы показали, что клетки Jurkat/A4 с фенотипом множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) оказываются более устойчивыми к фотодинамическому воздействию с фотолоном (хлорин е6) по сравнению с клетками исходной линии Jurkat.

Цель исследования – анализ цитотоксичности и индукции апоптоза в клетках Jurkat Т-лимфобластного лейкоза человека и сублинии Jurkat/A4 с фенотипом МЛУ при фотодинамическом воздействии с хлорином е6 в сочетании с плюроником F127.

Материалы и методы. Клетки Jurkat и Jurkat/A4 в логарифмической фазе роста инкубировали 1,5 ч с хлорином e_6 0,25 мкг/мл или его комбинацией с плюроником F1272 мкг/мл, после чего подвергали воздействию лазерного излучения (длина волны 658 нм, доза 1 Дж/см^2). Жизнеспособность клеток определяли через 18 ч после фотодинамического воздействия. Индукцию апоптоза в этот же срок регистрировали по содержанию гиподиплоидных клеток на цитофлуориметре FACSCalibur после окрашивания их пропидиум йодидом.

Результаты. Фототоксичность, опосредованная хлорином е6, для клеток Jurkat была значительно меньшей, нежели при использовании хлорина е6 в комплексе с поливинилпирролидоном (препарат фотолон). Вместе с тем цитотоксический эффект фотодинамического воздействия с хлорином е6 на клетки Jurkat значительно усиливался при сочетанном применении хлорина е6 и плюроника F127 в указанных концентрациях (11,7 % против 82,5 % соответственно). Вклад апоптоза в общую гибель клеток был относительно небольшим, и при сочетанном применении хлорина е6 с плюроником F127 фракция гиподиплоидных клеток была лишь на 11,3 % выше, чем в контроле. При использовании хлорина е6 как самостоятельно, так и в сочетании с плюроником F127 фототоксичность для клеток Jurkat/A4 практически отсутствовала. В клетках Jurkat и Jurkat/A4, подвергшихся фотодинамическому воздействию при использовании хлорина е6 в сочетании с плюроником F127, отмечено перераспределение клеточной популяции в фазах S + G_2 клеточного цикла в сторону относительного увеличения содержания клеток в фазе G_2 за счет снижения содержания клеток в фазе S.

Заключение. Применение плюроника F127 значительно усиливает эффект фотодинамического воздействия с хлорином е6 на клетки Jurkat. Такой эффект не наблюдается при фотодинамическом воздействии на клетки Jurkat/A4, что косвенно подтверждает ранее установленный факт независимости фенотипа МЛУ в этих клетках от механизмов, связанных с гиперэкспрессией ABC-транспортеров.

А.И. Шмак[1], М.Ю. Ревтович[1], П.М. Бычковский[2, 3], Т.Л. Юркштович[2], С.О. Соломевич[2], Д.А. Адамчик[2]

ПЕРВЫЙ ОПЫТ ИНТРАПЕРИТОНЕАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ЦИСПЛАЦЕЛА ПРИ РАКЕ ЖЕЛУДКА IIA–IIIC СТАДИЙ

[1]РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова, Минск, Республика Беларусь;
[2]НИИ ФХП БГУ, Минск, Республика Беларусь;
[3]УНП РУП «Унитехпром БГУ», Минск, Республика Беларусь

Введение. Характер прогрессирования рака желудка (РЖ) с формированием перитонеальной диссеминации свидетельствует о необходимости дополнения радикального хирургического лечения интраперитонеальной химиотерапией (ИХТ). Одним из вариантов проведения ИХТ является применение цисплатина, депонированного на рассасывающемся полимере – монокарбоксицеллюлозе, которая обладает кровоостанавливающим действием и обеспечивает пролонгированный релиз химиопрепарата.

Цель исследования – оценить переносимость и непосредственные результаты лечения пациентов с резектабельным РЖ с применением цисплатина, депонированного на монокарбоксицеллюлозе.

Материалы и методы. Рандомизировано 60 радикально оперированных пациентов с РЖ IIA – IIIC стадий: контрольная группа (n = 38) и основная группа (n = 22), в которой радикальная операция дополнялась аппликацией цисплатина, депонированного на монокарбоксицеллюлозе (препарат Цисплацел производства УНП РУП «Унитехпром БГУ», Республика Беларусь), в зоне лимфодиссекции гепатодуоденальной связки, по ходу чревного ствола и его ветвей, на заднюю брюшную стенку в проекции левого надпочечника (в суммарной дозе из расчета 50 мг/м^2 цисплатина). В исследование включены 5 пациентов с наличием диссеминации по брюшине сальниковой сумки: основная группа (n = 1) – операция + перитонэктомия сальниковой сумки (бурсэктомия) с аппликацией Цисплацела и контрольная группа (n = 4) (в послеоперационном периоде пациентам с диссеминированным РЖ проведено 4–6 курсов полихимиотерапии ELF). При оценке токсичности ИХТ использовалась шкала CTCAE v. 4.

Результаты. При оценке токсичности ИХТ токсических осложнений III–IV степени (CTCAE v. 4) не зарегистрировано как при лечении РЖ IIA – IIIC стадий, так и при лечении интраперитонеально диссеминированного РЖ. Количество послеоперационных осложнений у пациентов с РЖ IIA – IIIC стадий было сопоставимо в обеих группах лечения (χ^2 = 0,111; p = 0,738). В основной группе – 3 пациента: лихорадка неясного генеза – 2 случая (I степень по CTCAE v. 4), очаговый панкреонекроз, поддиафрагмальный абсцесс – 1 случай (IV степень); в контрольной группе – 2 пациента: нагноение послеоперационной раны – 1 случай (I степень), очаговый панкреонекроз, поддиафрагмальный абсцесс – 1 случай (IV степень). У пациентов с диссеминированным РЖ осложнений не отмечено. Признаки прогрессирования заболевания в группе радикально оперированных в сроки до 24 мес отмечены у 8 (21 %) пациентов контрольной группы и у 2 (9 %) – основной; статистически значимые различия отсутствовали (χ^2 = 0,446; p = 0,504), что обусловлено небольшим числом пациентов в группах.

Заключение. Интраперитонеальное использование Цисплацела при лечении РЖ характеризуется удовлетворительной переносимостью и сопровождается приемлемым количеством осложнений. Онкологическая целесообразность подобного варианта ИХТ нуждается в уточнении, исследование продолжается.

Д.А. Шнайдер[1], Т.И. Малова[2], К.Ю. Шерстобитова[1], С.Р. Утц[3]

ПЕРВЫЙ ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ С ФОТОДИТАЗИНОМ У БОЛЬНЫХ РОЗАЦЕА

[1]ГУЗ «СОКВД», Саратов;
[2]ООО «ВЕТА-Гранд», Москва;
[3]ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов

Введение. Лечение больных розацеа определяется совокупностью многих факторов и представляет собой в боль-

шинстве случаев сложную задачу, поскольку терапевтический эффект достигается не всегда, а нерациональная терапия может осложнить течение заболевания и привести к психосоциальной дезадаптации больных.

Цель исследования – оценить эффективность метода фотодинамической терапии (ФДТ) с Фотодитазином в лечении пациентов с розацеа.

Материалы и методы. Под наблюдением находились 30 пациентов, из них у 20 диагностирован эритематозно-телеангиэктатический субтип розацеа, у 10 – папулопустулезный. Мужчин было 22 человека, женщин – 8, возраст пациентов варьировал от 25 до 57 лет. Для оценки эффекта ФДТ сравнивались патоморфологические изменения (ПИ) кожи в очагах поражения и их клинические проявления до и после лечения у больных розацеа в области лба, щек и подбородка. ПИ кожи в очагах поражения были зафиксированы с помощью дерматоскопического исследования (ДИ), которое проводили на видеодерматоскопе MoleMaxHD (увеличение ×30, ×60, ×80). Для лечения всех пациентов применили метод ФДТ с аппликационным нанесением на очаги поражения 0,25 % геля Фотодитазин под окклюзионную повязку на 60 мин. Облучение проводили лазерным диодным аппаратом АЛОД-01 (длина волны 662 нм) при плотности энергии за один сеанс 50 Дж/см^2, на курс 3–4 сеанса.

Результаты. Обследование пациентов с помощью видеодерматоскопии до начала лечения показало, что у 100 % наблюдаемых в очагах поражения обнаружены фолликулярные пробки, полигональные дилатированные сосуды различного калибра, поверхностные чешуйки белесого цвета. После завершения курса лечения при ДИ очагов поражения у 60 % пациентов с розацеа выявляемые ранее сосуды не визуализировались, у 40 % – определялись единичные патологические сосуды с уменьшенным диаметром, у всех 30 больных встречались единичные фолликулярные пробки, чешуйки не обнаруживались. Данные дерматоскопии очагов поражения у пациентов с обоими подтипами розацеа совпадали с динамикой клинической картины после лечения: у 22 была достигнута клиническая ремиссия, у 7 –значительное улучшение, у 1 – улучшение.

Заключение. Методика ФДТ с аппликационным нанесением препарата Фотодитазин показала высокую эффективность в лечении пациентов с розацеа.

В.И. Штин, К.Ю. Меньшиков, В.А. Новиков, О.В. Черемисина

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ В ЛЕЧЕНИИ ОПУХОЛЕЙ ПОЛОСТИ НОСА И ПРИДАТОЧНЫХ ПАЗУХ

ФГБНУ Томский НИИ онкологии, Томск

Введение. Особое место среди всех онкологических процессов занимают опухоли полости носа и придаточных пазух, которые находятся на 35-м месте в структуре общей онкологической заболеваемости. Разработанные в настоящее время комбинированные подходы к лечению опухолей полости носа и придаточных пазух позволили повысить результаты общей и безрецидивной выживаемости больных. Данные 5-летней выживаемости колеблются от 37 до 60 %. Но, несмотря на все успехи, остается высоким процент рецидивирования опухолей, местные рецидивы в течение первых 2 лет наблюдаются в 50–80 % случаев.

Цель исследования – повысить эффективность лечения больных опухолями полости носа и придаточных пазух с использованием фотодинамической терапии (ФДТ).

Материалы и методы. Всем пациентам с опухолями полости носа и придаточных пазух стадий T2–4N0–3M0 проводился предоперационный курс дистанционной γ-терапии на установке «Рокус-М». Через 3–5 дней выполнялось хирургическое вмешательство в объеме комбинированной электрорезекции верхней челюсти с флуоресцентной диагностикой радикальности операции и ФДТ. Для проведения флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии использовали фотосенсибилизатор Фотодитазин (ООО «ВЕТА-Гранд», регистрационный номер ЛС-001246). Препарат вводили за 2 ч до операции внутривенно капельно. После удаления опухоли выполнялся контроль радикальности операции с использованием флуоресцентной диагностики и мазков-отпечатков со стенок послеоперационной полости. Затем проводили ФДТ на ложе опухоли. Интраоперационную фотодинамическую терапию выполняли с применением полупроводникового лазера красного диапазона излучения «АЛОД-01», длина волны излучения – 662 нм, выходная мощность излучения на торце кварцевого моноволокна – 0,1–2,0 Вт. Доза излучения – 150–350 Дж/см^2. Проведено комбинированное лечение 14 пациентов с распространенными опухолевыми процессами полости носа и околоносовых пазух.

Результаты. Сроки наблюдения за больными составили от 5 до 36 мес. Разработанная методика интраоперационной ФДТ у пациентов с местно-распространенными опухолями полости носа и придаточных пазух позволяет повысить показатели 2-летней безрецидивной выживаемости с 71 % в контрольной группе до 80 % ($p > 0,05$) в исследуемой группе.

Заключение. Таким образом, комплексный подход к лечению пациентов с местно-распространенными опухолями полости носа и придаточных пазух с использованием ФДТ позволяет повысить непосредственные отдаленные результаты лечения, не оказывая влияния на качество жизни больных.

Н.А. Шуканова[1], Н.А. Козловская[2], М.А. Мартынова[1], Е.В. Шаповал[2], И.М. Бушмакина[1], М.М. Молчан[1]

СОПОСТАВЛЕНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОК С РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОСЛЕ НЕОАДЪЮВАНТНОЙ ПОЛИХИМИОТЕРАПИИ И ПРОГНОЗА *IN VITRO*

[1]ГНУ ИБиКИ НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь; [2]ГУ «РНПЦ ОМР Н.Н. Александрова», агрогородок Лесной, Республика Беларусь

Введение. Сходные по гистологическому строению злокачественные опухоли молочной железы нередко имеют различную химиочувствительность. Индивидуальный подход к определению режимов химиотерапии онкологических пациентов в настоящее время остается крайне актуальной задачей.

Цель исследования – оценить степень регрессии рака молочной железы (РМЖ) после неоадъювантной полихи-

миотерапии (НПХТ) методами мануального обследования, маммографии и ультразвукового исследования (УЗИ) и чувствительность клеток РМЖ в первичной культуре к применяемым химиопрепаратам.

Материалы и методы. Первичную культуру получали из трепан-биоптатов опухоли молочной железы пациенток с диагнозом РМЖ до проведения НПХТ. Активность ацетилхолинэстеразы (АХЭ) определяли стандартным методом с использованием реактива Эллмана и выражали в относительных единицах увеличения оптической плотности суспензии клеток в минуту в пересчете на 1 мг белка. Чувствительность к лекарственным средствам *in vitro* оценивали по величине прогностического коэффициента k, отражающего изменение активности АХЭ в культуре при добавлении химиопрепаратов и последующего культивирования в течение 48 ч в стандартных условиях CO_2-инкубатора.

Результаты. Определены значения коэффициента k в первичной культуре опухоли 46 пациенток с первично верифицированным диагнозом РМЖ различных молекулярно-генетических подтипов и осуществлена оценка степени регрессии опухоли после НПХТ методами, применяемыми в клинике. Установлено, что совпадение положительного прогноза по значению k после НПХТ и степени регрессии опухоли в общей группе пациенток, определенной мануально, составляет в среднем 75 %. Совпадение рентгенологических показателей и данных, полученных *in vitro*, составляет 67 %, а данных УЗИ – лишь 60 %. Оценка степени регрессии опухоли после проведения НПХТ в клинике не всегда однозначна. Например, для пациентки с Her2-позитивным подтипом РМЖ мануальное обследование свидетельствовало о полном отсутствии регрессии, маммография – о регрессии, составляющей 63 %, а УЗИ – о регрессии 81 %. В то же время для группы пациенток с трижды негативным подтипом РМЖ чувствительность к химиопрепаратам, определенная нами *in vitro*, и степень регрессии опухоли после НПХТ совпадала на 71 % при определении мануальным методом, на 68 % – при маммографии и на 75 % – при использовании УЗИ.

Заключение. Таким образом, разработанный нами метод определения чувствительности клеток РМЖ в первичной культуре к химиопрепаратам позволяет дополнительно оценить вероятную регрессию опухоли молочной железы отдельной пациентки после НПХТ.

Т.Г. Щербатюк[1], Е.С. Плеханова[2], И.А. Чернигина[1], Г.С. Терентюк[3], А.Б. Бучарская[3]

НОВАЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ СХЕМА ЛЕЧЕНИЯ ОПУХОЛЕЙ НА ОСНОВЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

[1]ГБОУ ВПО НижГМА, Нижний Новгород;
[2]ФГАОУ ВО «ННГУ им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород;
[3]ФГБОУ ВПО «СГУ им. Н. Г Чернышевского», Саратов

Введение. Фотодинамическая терапия (ФДТ) не нашла широкого применения в онкологической практике из-за ряда недостатков и ограничений. Нами предлагается усилить фотодинамическое воздействие за счет интенсификации в опухолевой ткани окислительного стресса медицинским озоном.

Цель исследования – разработать схему лечения опухолей на основе комбинирования ФДТ с медицинским озоном (O_3) в эксперименте.

Материалы и методы. Белые нелинейные крысы с трансплантированной карциномой почки РА были разделены на три группы: ФДТ (n = 10), ФДТ + O_3 (n = 8) и контрольная (n = 10), в каждой из которых выделили подгруппы с исходными объемами опухоли до 0,5 см^3 (А) и более 0,5 см^3 (В). При ФДТ интратуморально вводили 0,3 % раствор препарата Фотосенс (ГНЦ «НИОПИК», Россия) и в течение 6–12 ч после инъекции воздействовали светодиодным лазером ($\lambda = 660 \pm 10$ нм, P = 100 мВт/см^2). Всего проведено 2 сеанса ФДТ: на 15-е и 19-е сутки после перевивки. Животным группы ФДТ + O_3 с 10-х суток после трансплантации внутрибрюшинно вводили по 0,5 мл озонированного физиологического раствора с концентрацией озона в озоно-кислородной смеси 400 мкг/л (курс 10 дней). Противоопухолевый эффект оценивали по коэффициенту абсолютного прироста опухоли ($K \geq 0$ – продолженный рост опухоли; $-1 \leq K < 0$ – опухолевая регрессия). Обработка данных осуществлялась с использованием методов непараметрической статистики.

Результаты. После ФДТ показана регрессия карциномы в 5 случаях из 10, но статистически достоверно более высокий K при продолженном росте опухоли (p = 0,038) по сравнению с контролем. После комбинированного воздействия опухолевая регрессия наблюдалась в 5 случаях из 8, а также торможение опухолевого роста как в подгруппе А (p = 0,034), так и в подгруппе В (p = 0,045) по сравнению с контролем.

Заключение. ФДТ с препаратом Фотосенс при интратуморальном введении может оказывать стимулирующее действие на рост неоплазии. Разработанная экспериментальная схема лечения опухолей, основанная на комбинированном действии ФДТ с озонированным физиологическим раствором с концентрацией озона в озоно-кислородной смеси 400 мкг/л, более эффективна при исходно малых объемах опухоли и обладает сниженным риском стимуляции роста опухолевого новообразования при исходно больших размерах опухолевого очага по сравнению с ФДТ.

Ж.А. Юлдашов, Д.М. Матрасулова, Н.Н. Пулатов

СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРОФИЛАКТИКИ СТЕАТОГЕПАТИТА У БОЛЬНЫХ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Ургенчский филиал Ташкентской медицинской академии, Ургенч, Республика Узбекистан

Цель исследования – оценить безопасность и эффективность терапии урсодеоксихолевой кислотой (УДХК) в комбинации с симвастатином (СС) при лечении дислипидемии у больных с неалкогольным стеатогепатитом (НАСГ) и метаболическим синдромом (МС).

Материалы и методы. Обследованы 30 пациентов с МС и НАСГ, подтвержденными клинико-лабораторными и ультразвуковыми исследованиями (УЗИ), и лабораторно доказанной атерогенной дислипидемией. Средний возраст мужчин составил 52 ± 12 лет, женщин – 66 ± 12 лет. Всем больным был проведен биохимический анализ крови, осуществлен серологический скрининг вирусного гепатита

(HBsAg, анти-HCV), исследовался липидный спектр крови (триглицериды, общий холестерин, холестерин липопротеидов высокой плотности, холестерин липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП)), уровень глюкозы натощак. Инструментальное обследование включало УЗИ и/или компьютерную томографию органов брюшной полости. Обследование проводилось на этапе скрининга и/или включения пациента в исследование и через 30 дней на фоне лечения.

Результаты. На фоне совместной терапии СС и УДХК через 30 дней не зафиксировано ни одного случая превышения значений аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) в исходном периоде, напротив, наметилась тенденция к снижению среднего значения уровня маркеров цитолиза: через 30 дней средний уровень АЛТ понизился до 55 ± 15 МЕ/л, АСТ – до 45 ± 15 МЕ/л. У 7 (23,3 %) пациентов отмечена нормализация АЛТ и АСТ.

Выводы. Таким образом, комбинированная терапия статинами и УДХК у пациентов с МС и НАСГ позволяет малыми и средними дозами статинов достичь эффективного снижения уровня общего холестерина и ХС ЛПНП с одновременным нивелированием их побочных эффектов.

Н.К. Юркштович, Т.Л. Юркштович, В.О. Мирончик, В.А. Алиновская, Н.В. Голуб

ИССЛЕДОВАНИЕ РЕЛИЗА ЦИТОСТАТИКА ИЗ ФАЗЫ ГИДРОГЕЛЕЙ ФОСФАТОВ ДЕКСТРАНА

НИИ ФХП БГУ, Минск, Республика Беларусь

Введение. Темозоломид (4-метил-5-оксо-2,3,4,6,8-пентазабицикло[4,3,0]нона-2,7,9-триен-9-карбоксамид) – один из наиболее эффективных препаратов при лечении злокачественных новообразований головного мозга: глиобластом, анапластических астроцитом, анапластических олигодендроглиом, глиом низкой степени злокачественности. Существенными недостатками темозоломида являются: токсичность, низкая растворимость в воде, нестабильность его водных растворов в нейтральной и щелочной областях pH. Для создания системы адресной доставки цитостатика в место локализации опухоли или ее остатков синтезирована система, представляющая собой темозоломид, иммобилизованный на биодеградируемые гелеобразующие фосфаты декстрана (ФД), которые биосовместимы с организмом, способны создавать «эффект перегрузки» лекарственным веществом и обладают собственной противоопухолевой активностью.

Цель исследования – разработка пролонгированной формы противоопухолевого вещества темозоломида, предназначенной для комбинированного лечения первичномозговых и метастатических опухолей головного мозга.

Материалы и методы. Структура, состав и размеры полученных образцов были исследованы методами потенциометрического титрования, инфракрасной (ИК) и ^{31}P ядерной магнитно-резонансной спектроскопии, элементного анализа, рентгенофазового анализа, сканирующей электронной микроскопии и атомно-силовой микроскопии. Исследована кинетика релиза иммобилизированного противоопухолевого вещества темозоламида из гелевой фазы ФД, синтезированных путем этерификации декстрана со среднемассовой молекулярной массой 60 кДа в системе $Bu_3PO_4 – H_3PO_4 – P_2O_5$.

Результаты. Наибольшая часть цитостатика выходит из фазы ФД в течение 1-го часа (~80 %). В течение 2–4 ч выход цитостатика из фазы гидрогеля достигает равновесного значения. С увеличением значений pH раствора фазы гидрогеля ФД выход цитостатика уменьшается. При значениях pH 2,4–4,6 фазы ФД наблюдается практически полный выход цитостатика из гидрогеля в течение 2–4 ч; при pH 7,3 выход цитостатика из фазы ФД значительно меньше, особенно если процесс сорбции был проведен в течение длительного периода (20 ч). Этот факт, также как и данные ИК-спектроскопического исследования, подтверждают нестабильность темозоломида в фазе гидрогеля в нейтральной среде. Однако выход цитостатика не зависит от соотношения полимер: цитостатик в интервале массового соотношения 9:1–15:1 и от времени проведения сорбционного процесса в кислой области pH растворов фазы ФД.

Заключение. Полученные данные кинетики релиза цитостатика из фазы гидрогелей ФД свидетельствуют о наличии пролонгированного эффекта в синтезированной системе.

Т.Л. Юркштович, Н.В. Голуб, Н.К. Юркштович, П.М. Бычковский, Р.И. Костерова

ПРОТИВООПУХОЛЕВОЕ СРЕДСТВО НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРФЕРОНА α-2В В ВИДЕ МИКРОЧАСТИЦ

НИИ ФХП БГУ, Минск, Республика Беларусь

Введение. Высокий интерес к разработке нано- и микроразмерных систем доставки белков и пептидов обусловлен возможностью оптимизации терапевтической активности биомакромолекул, пролонгирования их действия, снижения количества побочных эффектов. Фосфат крахмала является одним из перспективных полимеров для создания таких систем, поскольку он нетоксичен, биосовместим и биодеградируем.

Цель исследования – получение и оценка цитотоксической активности пролонгированной формы интерферона α-2b (ИФН-α-2b) в виде микрочастиц для парентерального применения.

Материалы и методы. В качестве полимера – носителя ИФН-α-2b были выбраны микрогели фосфатов крахмала, полученные путем этерификации картофельного крахмала ортофосфорной кислотой. Количество белка, связанного с полимером-носителем, определяли методом Бредфорда. Цитотоксичность пролонгированных форм ИФН-α-2b, исходного цитокина оценивали в условиях *in vitro* на монослойной культуре опухолевых клеток HeLa.

Результаты. Получены и исследованы устойчивые микрогели фосфатов крахмала с содержанием фосфорнокислых групп 7,5–11,8 %, степенью набухания 14,4–29,5 г/г и средними размерами в интервале 7,7–60,1 мкм. Установлено, что процент включения ИФН-α-2b в состав сформированных микрогелей из внешнего раствора зависит от степени их набухания и находится в пределах 51–98 %. Исследован процесс комплексообразования ИФН-α-2b и фосфатов крахмала; установлено, что он носит кооперативный характер. Изучено влияние размеров микрочастиц на продолжительность высвобождения ИФН-α-2b из по-

лимерной сетки. Показано, что суспензия в виде микрочастиц со средними размерами ≥ 53,5 мкм является противоопухолевым средством более длительного действия: 50 % ИФН-α-2b высвобождается из фазы микрогелей (степень набухания 23,8–29,5 г/г) в фосфатный буферный раствор через 6 ч, 80 % – в течение 24 ч. Для микросфер меньшего диаметра (до 27 мкм) характерен наиболее высокий выброс ИФН-α-2b в течение первых 30 мин, который в зависимости от степени набухания фосфата крахмала составляет 47,3–61,5 %. Наличие длительного линейного участка на кинетических кривых высвобождения ИФН-α-2b для микрогелей среднего размера ≥ 53,5 мкм позволяет использовать их в качестве полимеров-носителей для контролируемой доставки белка. Впервые установлено, что микроразмерная форма ИФН-α-2b дает выраженный цитотоксический эффект в условиях *in vitro*.

Заключение. Результаты исследования позволяют оценить микроразмерную форму рекомбинантного ИФН-α-2b как новую эффективную пролонгированную форму цитокина с противоопухолевой активностью, превышающей активность используемой в настоящее время инъекционной формы ИФН-α-2b.

Т.Л. Юркштович[1], П.М. Бычковский[1], М.Ю. Ревтович[2], Ю.П. Истомин[2], С.О. Соломевич[1], Н.В. Голуб[1], Ф.Н. Капуцкий[1], А.И. Шмак[2], Е.Н. Александрова[2]

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ГИДРОГЕЛЕВОЙ ФОРМЫ ОКСАЛИПЛАТИНА ПРИ ЕГО ИНТРАПЕРИТОНЕАЛЬНОМ ПРИМЕНЕНИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VIVO*

[1]НИИ ФХП БГУ, Минск, Республика Беларусь;
[2]РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова, Минск, Республика Беларусь

Введение. Применяемые на сегодняшний день варианты интраперитонеальной химиотерапии характеризуются недостаточной эффективностью ввиду кратковременного противоопухолевого эффекта применяемых химиопрепаратов. Для обеспечения пролонгации противоопухолевой активности интраперитонеально вводимых химиопрепаратов предполагается использовать производные декстрана, в частности гидрогели на основе фосфата декстрана.

Цель исследования – оценить в сравнительном аспекте противоопухолевую активность раствора оксалиплатина (ОП) и его гидрогелевой формы на модели асцитной гепатомы Зайдела.

Материалы и методы. Исследование специфической активности препаратов проведено на 56 белых беспородных крысах (масса тела 184 ± 7 г) с перевитой внутрибрюшинно гепатомой Зайдела (Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург). Препараты ОП в форме растворов и в виде гидрогелей в комбинации с фосфатом декстрана (в дозах 6, 9, 12 мг/кг в пересчете на цитостатик) вводили крысам однократно внутрибрюшинно (1,25 мл/100 г массы тела животного). В качестве критериев эффективности использовали оценку кумулятивной выживаемости по Каплану – Майеру и снижение относительного риска (ОР) летального исхода от прогрессирования опухолевого процесса при применении исследуемых препаратов с использованием непараметрической модели пропорциональных рисков Кокса.

Результаты. Ингибирование роста гепатомы Зайдела отмечено при использовании как растворов ОП, так и его гидрогелей и проявилось достоверным увеличением кумулятивной выживаемости в сравнении с контролем ($p_{\text{log-rank}} = 0{,}0001$). Интраперитонеальное применение растворов ОП статистически значимо снижало ОР гибели животного от прогрессирования опухолевого процесса в сравнении с контрольной группой: ОП 6 мг/кг – 0,09 (0,033–0,27; $p = 0{,}0001$); ОП 9 мг/кг – 0,13 (0,048–0,36; $p = 0{,}0001$); ОП 12 мг/кг – 0,17 (0,062–0,46; $p = 0{,}0005$). Внутрибрюшинное введение гидрогелей с различным содержанием ОП не привело к статистически значимому снижению ОР в сравнении с растворами ОП: гидрогель ОП 6 мг/кг – 1,95 (0,65–5,82; $p = 0{,}233$); гидрогель ОП 9 мг/кг – 0,51 (0,15–1,75; $p = 0{,}285$); гидрогель ОП 12 мг/кг – 0,53 (0,17–1,69; $p = 0{,}288$). Вследствие этого при сравнительной оценке кумулятивной выживаемости животных, пролеченных с применением растворов ОП и гидрогелей ОП с той же концентрацией последнего достоверные различия отсутствовали: ОП 6 мг/кг и гидрогель ОП 6 мг/кг – $p_{\text{log-rank}} = 0{,}174$; ОП 9 мг/кг и гидрогель ОП 9 мг/кг – $p_{\text{log-rank}} = 0{,}293$; ОП 12 мг/кг и гидрогель ОП 12 мг/кг – $p_{\text{log-rank}} = 0{,}377$. Наиболее выраженным эффект подавления роста гепатомы Зайдела оказался при использовании гидрогелей ОП 9 и 12 мг/кг, гидрогель ОП 6 мг/кг по своей эффективности был сопоставим с использованием растворов ОП.

Заключение. Интраперитонеальное использование гидрогелевых форм ОП характеризовалось тенденцией к улучшению показателей кумулятивной выживаемости при лечении асцитной гепатомы Зайдела, что является основанием для продолжения исследований.

Н.П. Яворская, И.С. Голубева, Л.В. Эктова, В.А. Еремина, Н.И. Тихонова, Т.Д. Миникер, М.В. Дмитриева

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ИНДОЛОКАРБАЗОЛА ЛХС-1269

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. При изучении противоопухолевой активности производных индолокарбазолов с различными углеводными остатками и заместителями по амидному атому водорода на перевиваемых асцитных и солидных моделях опухолей отобрано соединение ЛХС-1269 с углеводным остатком ксилозой для дальнейшего углубленного исследования.

Цель исследования – изучение противоопухолевой активности производного индолокарбазола ЛХС-1269.

Материалы и методы. В опытах использованы мыши-гибриды BDF_1 массой тела 18–22 г. Критерием эффективности служили торможение роста опухоли (ТРО, %) и увеличение продолжительности жизни (УПЖ, %) опытных мышей по сравнению с нелеченым контролем. Соединение ЛХС-1269 – субстанцию и лекарственную форму вводили внутрибрюшинно в дозе 60 мг/кг в течение 5 дней с интервалом 24 ч.

Результаты. Противоопухолевая активность соединения ЛХС-1269 на опухоли Эрлиха достигала 337 % УПЖ животных; на штамме лимфолейкоза Р388 – 93 % УПЖ мышей. На раке толстого кишечника АКАТОЛ обнаружен непосредственный эффект 90 % ТРО, сохраняемый

до 26-го дня на уровне 62 % в процессе наблюдения после окончания лечения. На раке шейки матки РШМ-5 для субстанции показан непосредственный эффект 80 % ТРО, сохраняемый на уровне 50 % до 15-го дня наблюдения; при исследовании лекарственной формы ЛХС-1269 обнаружен непосредственный эффект 90 % ТРО, сохраняемый на уровне 70 % до 19-го дня наблюдения после окончания лечения. На меланоме В16 для лекарственной формы детектировали непосредственный эффект 52–84 % ТРО, сохраняемый до 22–27-го дня на уровне 50–62 % соответственно (2 опыта). На аденокарциноме молочной железы Са755 – непосредственный эффект 60–86 % ТРО, сохраняемый до 15–19-го дня на уровне 61–68 % соответственно (2 опыта с лекарственной формой ЛХС-1269). На раке легкого Льюис (LLC) показан непосредственный эффект 51 % ТРО, сохраняемый до 26-го дня на уровне 55 % в процессе наблюдения после окончания лечения и эффект 57–75 % ТРО, сохраняемый до 22–27-го дня на уровне 54–62 % соответственно (2 опыта с лекарственной формой ЛХС-1269).

Заключение. Полученные результаты дают основание продолжить доклиническое исследование ЛХС-1269 с целью рекомендовать его для клинического изучения.

Е.В. Ярославцева-Исаева, М.А. Каплан, В.Н. Капинус, И.С. Спиченкова, Н.И. Сокол

ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ КОЖИ С ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОМ ФОТОЛОН

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ НМИРЦ Минздрава России, Обнинск, Калужская область

Введение. Эффективность фотодинамической терапии злокачественных новообразований зависит от нескольких факторов: гистологической формы, месторасположения опухолевого очага, характера предыдущего лечения, дозы лазерного облучения и количества фотосенсибилизатора (ФС) в опухолевой ткани. Определение количества ФС в опухолевой ткани является важным фактором для планирования дозы лазерного облучения. Единственной клинической методикой для определения степени накопления ФС в опухолевом очаге является флуоресцентная диагностика.

Цель исследования – изучить закономерности накопления ФС Фотолона в злокачественных новообразованиях кожи по данным флуоресцентной спектроскопии.

Материалы и методы. У 88 больных раком кожи (базально-клеточный, плоскоклеточный) изучили степень накопления ФС в различных внутривенно (в/в) введенных дозах в здоровой коже руки. У 46 пациентов с в/в дозой Фотолона 1,3 мг/кг изучили индекс контрастности опухолевая/здоровая ткань в зависимости от клинической формы злокачественного новообразования кожи – поверхностная ($n = 12$), эрозивно-язвенная ($n = 18$) или узловая ($n = 16$). У 34 пациентов с узловой формой рака кожи с в/в дозой Фотолона 1,3 мг/кг оценили индекс контрастности опухолевая/здоровая ткань в зависимости от гистологической формы – плоскоклеточный ($n = 17$) или базальноклеточный ($n = 17$). Флуоресцентную спектроскопию проводили на оптоволоконном спектроанализаторе «Лесса-6» с гелий-неоновым диагностическим лазером ЛГН 633–25 (Biospec, Россия).

Результаты. У 30 пациентов доза в/в введенного ФС Фотолона соответствовала 0,7–1 мг/кг (1-я группа), у 30 – 1,1–1,4 мг/кг (2-я группа), у 28–1,5–2 мг/кг (3-я группа). В 1-й группе среднее значение степени накопления в относительных единицах соответствовало 6,9 ± 0,3 (минимальное – 4,6, максимальное – 12,2), во 2-й группе – 8,0 ± 0,3 (минимальное – 4,6, максимальное – 12,5), в 3-й группе – 9,9 ± 0,7 (минимальное – 5,7, максимальное – 20,3). Выявлена тесная связь между дозой в/в введенного ФС и степенью накопления в здоровой коже с коэффициентом корреляции $r = 0{,}997$ ($p < 0{,}05$). Уравнение регрессии по средним величинам имеет вид

$$y = 3{,}24x + 4{,}08,$$

где x – среднегрупповая доза ФС. Через 3 ч после в/в введения ФС Фотолона в дозе 1,3 мг/кг индекс контрастности в поверхностной форме рака кожи в среднем соответствовал 2,7 ± 0,5, в узловой – 2,3 ± 0,2, в эрозивно-язвенной – 3,6 ± 0,3. Достоверные различия получены между поверхностной и эрозивно-язвенной формами рака ($U(12, 18) = 58$; $p < 0{,}05$) и между узловой и эрозивно-язвенной формами ($U(16, 18) = 50$; $p < 0{,}0025$). У пациентов с узловой формой рака с в/в дозой Фотолона 1,3 мг/кг при плоскоклеточном раке индекс контрастности был достоверно выше (в среднем 2,81 ± 0,20), чем при базальноклеточном (2,1 ± 0,20; $t = 2{,}1$; $p < 0{,}05$).

Заключение. Флуоресцентная диагностика – необходимое условие для проведения качественной фотодинамической терапии больным злокачественными новообразованиями кожи. Флуоресцентная спектроскопия помогает оценить степень накопления дозы ФС в опухоли и индивидуально спланировать световую дозу.

И.В. Ярцева, Е.В. Игнатьева, Н.А. Дмитричева, Т.Д. Миникер, Н.А. Машалова, Л.В. Эктова, А.П. Будько, З.С. Шпрах

СТАНДАРТИЗАЦИЯ ЛХС-1208

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. ЛХС-1208, синтезированный в лаборатории химического синтеза РОНЦ им. Н.Н. Блохина, является представителем класса гликозилиндолокарбазолов. По механизму биологического действия ЛХС-1208 относится к ингибиторам протеинкиназы С и представляет интерес для терапии злокачественных новообразований.

Цель исследования – химико-фармацевтическая стандартизация субстанции ЛХС-1208.

Материалы и методы. ЛХС-1208, изготовитель – лаборатория химического синтеза РОНЦ им. Н.Н. Блохина**.** Гравиметрия**,** спектрофотометрия, поляриметрия, тонкослойная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), спектроскопия протонного магнитного резонанса (ПМР).

Результаты. Оценку качества препарата проводили по показателям, принятым для контроля качества фармацевтических субстанций. ЛХС-1208 представляет собой оранжевый аморфный порошок без запаха; растворим в диметилсульфоксиде и диметилформамиде (ДМФА); очень мало растворим в спирте этиловом 95 %, практически

нерастворим в воде. Растворы образцов ЛХС-1208 в ДМФА прозрачны. Подлинность субстанции подтверждается характерными ПМР-, инфракрасными спектрами, а также электронными спектрами поглощения. Удельный показатель поглощения при 320 ± 2 нм для 0,006 % растворов ЛХС-1208 в ДМФА находится в пределах от 1024 до 1084. Значения угла оптического вращения 1 % раствора ЛХС-1208 в ДМФА укладываются в интервал от +58° до +63°. Все изученные серии субстанции были свободны от неорганических примесей, золы, тяжелых металлов и содержали не более 1,5 % воды, определенной по методу Фишера. Содержание посторонних примесей в субстанции ЛХС-1208 и содержание основного действующего вещества определяли методом ВЭЖХ. В рамках разработанной методики все изученные серии субстанции содержали не более 1,0 % любой единичной неидентифицированной примеси и не более 3 % суммы неидентифицированных примесей. Содержание основного действующего вещества составило более 97 %.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что серии субстанции ЛХС-1208, синтезированные в лабораторных условиях, стандартны. Это позволило разработать проект ФСП на фармацевтическую субстанцию ЛХС-1208.

ДЛЯ ЗАМЕТОК