



ISSN 1726-9784

Российский Биотерапевтический Журнал

Rossiysky Bioterapevtichesky Zhurnal

Материалы X Всероссийской научной конференции с международным участием
«Отечественные противоопухолевые препараты»,
Москва, 22–23 марта 2011 г.



Russian Journal
of Biotherapy

1/2011

ISSN 1726-9784

РОССИЙСКИЙ БИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ И НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

№1 Том 10 2011 г.

УДК 616-085.2/.3

Учредители

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН; НИИ Экспериментальной диагностики и терапии опухолей

Главный редактор

А.Ю. Барышников, д-р мед. наук, проф.

Заместители главного редактора

А.В. Караулов, чл.-корр. РАМН, д-р мед. наук, проф.; Н.А. Оборотова, д-р фарм. наук, проф.

Редколлегия

М.А. Барышникова, канд. фарм. наук (отв. секретарь), Н.А. Батуриная,
О.А. Бочарова, д-р биол. наук, проф. (Москва),
А.К. Голенков, д-р мед. наук, проф. (Москва), Л.В. Демидов, д-р мед. наук, проф. (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.М. Моисеенко, д-р мед. наук, проф. (Санкт-Петербург), В.В. Новиков, д-р биол. наук, проф. (Нижний Новгород),
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),
С.А. Тюляндин, д-р мед. наук, проф. (Москва), Ю.В. Шишкин, д-р мед. наук, проф. (Москва),
И.Ж. Шубина, канд. биол. наук (Москва), Р.И. Якубовская, д-р мед. наук, проф. (Москва)

Редакционный совет

Н.П. Бочков, академик РАМН, д-р мед. наук, проф. (Москва), А.М. Гарин, д-р мед. наук, проф. (Москва),
Г.П. Георгиев, академик РАН, д-р биол. наук, проф. (Москва),
М.Л. Гершанович, д-р мед. наук, проф. (Санкт-Петербург),
М.И. Давыдов, академик РАН и РАМН, д-р мед. наук, проф. (Москва),
М.Р. Личиницер, чл.-корр. РАН, д-р мед. наук, проф. (Москва),
В.А. Тутьян, академик РАМН, д-р мед. наук, проф. (Москва),
В.И. Чиссов, академик РАМН, д-р мед. наук, проф. (Москва)

«Российский биотерапевтический журнал» является рецензируемым изданием

Зарегистрировано в Государственном Комитете Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций

Регистрационный номер:

ПИ №77-11695 от 21.01.2002 г.

Почтовый адрес:

115478, Москва, Каширское ш., 24

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН

НИИ Экспериментальной диагностики и терапии опухолей

Тел.: +7 (495) 323 57 00, +7 (495) 324 10 65; факс: +7 (495) 324 22 74;

E-mail: biotherapy_rbj@mail.ru

Интернет-версия: www.ronc.ru/1915

Подписной индекс 81679

Объем 5,5 усл.-печ. листов,

подписано в печать 19.01.2011

Тираж 1000 экз.

Издательская группа РОНЦ:

115478, Москва, Каширское шоссе, д. 24.

Тел. +7 (495) 324 24 70; ronc@list.ru

Координаторы: Е.Г. Турнянская, Б.Б. Крюков (макет)

Принт-менеджмент:

Типография «Огни Москвы»

Тел.: +7 (494) 933-87-78

info@ognimsk.ru, www.ognimsk.ru

СОДЕРЖАНИЕ

Материалы X Всероссийской научной конференции с международным участием «Отечественные противоопухолевые препараты», Москва, 22–23 марта 2011 г. ТЕЗИСЫ	3-74
Рабочий семинар МНТЦ. ТЕЗИСЫ	74-82
АКАДЕМИК РАМН В. И. ШВЕЦ, К 75-летию со дня рождения.....	83-84
Правила оформления статей.....	85-87
Список сокращений.....	88

Материалы X Всероссийской научной конференции с международным участием
«Отечественные противоопухолевые препараты»,
Москва, 22–23 марта 2011 г.

ТЕЗИСЫ

Н.А. Агзамова, З.М. Еникеева
**РАДИОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩЕЕ
ДЕЙСТВИЕ ДЭКОЦИНА
И ЕГО ВОДОРАСТВОРИМОГО
АНАЛОГА ДЭКОВИНА**

Республиканский онкологический центр МЗ Республики
Узбекистан, Ташкент

Цель исследования. Изучение радиосенсибилизирующего эффекта противоопухолевого препарата Дэкоцин и его водорастворимой формы – препарата Дэковин, на животных с опухолями: определение доз и оптимального времени его введения при однократном и многократном применении совместно с облучением, действие при снижении лучевой нагрузки, изучение различных схем многократного применения препаратов совместно с облучением.

Материалы и методы. Опухоли животных облучали на аппарате «THERATRON» с мощностью 112 с Гр/мин, источник Co^{60} в тотальной разовой дозе равной 6 Гр, 4,5 и 3 Гр, а также при многократном облучении в дозе 1,5 Гр четырекратно, или 1 Гр трехкратно, защищая животных свинцовыми пластинами со специальным отверстием. Определяли противоопухолевую активность при одно- и многократном введении препарата совместно с облучением на животных с опухолями АКАТОЛ, АКАТОН и Меланомы В-16 в ранних и поздних периодах после инокуляции опухоли.

Результаты. Найден оптимальный режим применения Дэкоцина и Дэковина совместно с облучением на животных с опухолями (дозы, время введения до облучения и в схемах) при однократном и многократном введении. Препараты способны усиливать действие однократного облучения на 26,25 %. Дэкоцин в схемах дробного облучения усиливает действие облучения в 6 Гр (в различных схемах) на опухоли АКАТОЛ на 17,5–17,02 %, Дэковин на – 39,06 % и 38,02 %. На штамме АКАТОН оба препарата вызвали усиление действия облучения в 6 Гр на 41 %, на штамме Меланомы В-16 при облучении 4,5 Гр на 19 % (Дэкоцин) и на 21 % (Дэковин). Сочетание препаратов с уменьшенной вдвое лучевой нагрузкой (3 Гр) потенцирует противоопухолевое действие однократного и многократного облучения на 61 % (Дэкоцин) и на 66 % (Дэковин) в сравнении с примененной дозой облучения на различных опухолевых штаммах. Этот эффект на 22–25 % превышает действие облучения в дозе 6 Гр при отсутствии побочных эффектов. Механизм выраженного радиосенсибилизирующего действия Дэкоцина и Дэковина обусловлен их способностью влиять на синтез ДНК и синхронизировать клетки в фазе $M+G_2$.

Выводы. В результате этой разработки возможно как более эффективное лечение опухолей человека применяемыми дозами облучения совместно с исследуемыми препаратами, так и уменьшение лучевой нагрузки при получении эффекта больших доз при совместном применении облучения с Дэкоцином или Дэковином. Дэкоцин разработан для наружного применения, у водорастворимого Дэковина область применения может быть шире.

С.М. Адекенов
**ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА
ПРЕПАРАТА АРГЛАБИН**

Международный научно-производственный холдинг
«Фитохимия», Республика Казахстан, Караганда

При изучении иммуномодулирующих свойств оригинального лекарственного препарата арглабин, разработанного на основе нового сесквитерпенового лактона из эндемичного растения *Artemisia glabella* Kar. et Kir. (полынь гладкая), установлено его выраженное иммуномодулирующее действие, проявляющееся в повышении количества Т- и О-лимфоцитов, увеличении субпопуляции теофиллинрезистентных Т-лимфоцитов. При этом показано, что арглабин способен в значительной степени устранять проявления иммунодепрессии, вызванной введением циклофосфана. Введение малых доз арглабина снижает степень угнетения иммунной системы при облучении. На модели хронического эндометрита установлено противовоспалительное и иммуностимулирующее действие, проявляющееся в активизации процессов фагоцитоза в селезенке и усиленной миграции клеток из мозгового вещества тимуса. Эффект оказался сопоставим с эффектом тималина. Изучены специфические виды токсичности арглабина в дозе, эквивалентной высшей терапевтической для человека. При этом выявлено, что арглабин не оказывает эмбриотоксического, тератогенного, канцерогенного и мутагенного действий. У больных ревматоидным артритом на фоне лечения арглабином в дозе 8 мкг/мл отмечается снижение спонтанно вырабатываемого ИФН, повышение до нормы способности к продукции ИФН α и ИФН- γ , повышение чувствительности к химиопрепаратам. После лечения арглабином больных раком молочной железы у 38% отмечено клиническое улучшение и восстановление механизмов синтеза цитокинов, вырабатываемых Th1-лимфоцитами, противовоспалительного цитокина ИЛ-4, ФНО- α , обладающего избирательной цитотоксичностью в отношении опухолевых клеток, а также ИЛ-1 β . Полученные данные свидетельствуют о высокой иммунокорригирующей способности арглабина у данных групп больных. На основании проведенных доклинических исследований была разработана капсулированная форма арглабина, проведена I фаза клинических испытаний препарата «Арглабин, капсулы» в качестве иммуномодулирующего средства. По результатам испытаний ни у одного из 30 больных не было выявлено побочных неблагоприятных эффектов, препарат не оказывает токсического действия на показатели периферической крови, функции печени и почек, тем самым являясь безопасным для использования в клинике, обладает хорошей переносимостью. Таким образом, учитывая наличие иммуномодулирующей активности арглабина, перспективным является использование его при лечении хронических воспалительных заболеваний, сопровождающихся вторичными иммунодефицитами, для иммунореабилитации онкологических больных, а также в качестве радиопротекторного средства при иммунодепрессии, связанной с воздействием ионизирующего излучения.

С.А. Аминов¹, М.Л. Гельфонд²
**ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ
В ЛЕЧЕНИИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА
ЛЕГКОГО, ОСЛОЖНЕННОГО
МЕТАСТАТИЧЕСКИМ ПЛЕВРИТОМ**

¹ГУЗ «Ивановский областной онкологический диспансер», Иваново

²ФГУ «Научно-исследовательский институт онкологии имени Н.Н. Петрова Росмедтехнологий», Санкт-Петербург

Цель исследования. Изучение эффективности применения фотодинамической терапии (ФДТ) препаратом Фотодитазин у больных немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ), осложненного метастатическим плевритом в ходе паллиативных видеоторакоскопических операций и при выполнении плеврало- или панплеврорепневмонэктомии.

Материалы и методы. В исследование включено 44 больных НМРЛ, осложненным метастатическим плевритом, которым проводилось два вида оперативных вмешательств: в случае отсутствия функциональных противопоказаний (7 больных) – плевралоэктомия и панплеврорепневмонэктомии в сочетании с интраоперационной ФДТ, в случае низких функциональных резервов выполнена видеоторакоскопия (ВТС) с ФДТ (37 больных). ФДТ проводилась препаратом Фотодитазин. Световое воздействие – аппаратом «Аткус-2». Контрольную группу составили 39 пациентов, которым лечение плеврита проводилось путем внутриплевральной химиотерапии (ВПХТ) блеомицином. Исследование качества жизни больных, проводилось с помощью специального опросника EORTC QLQ-30 (version 3.0).

Результаты. Средняя продолжительность жизни больных, перенесших оперативное вмешательство с ФДТ, составила 17,8 мес., а двое пациентов живы 26 мес. Средняя продолжительность жизни у пациентов, получающих стандартную противоопухолевую терапию (дренирование, химический плевродез и системная химиотерапия) составила всего 7,6 мес. Продолжительность жизни более 18 мес. в группе пациентов после ВТС с ФДТ составила 21,6 %. В группе пациентов после ВПХТ продолжительность жизни составила не более 10 месяцев. Отмечено более заметное, устойчивое и продолжительное улучшение качества жизни у пациентов после ВТС с ФДТ, чем у больных после ВПХТ.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют: выполнение плеврало- или панплеврорепневмонэктомий в сочетании с ФДТ у больных немелкоклеточным раком легкого, осложненным метастатическим плевритом, является наиболее радикальным методом лечения и позволяет максимально увеличить выживаемость; применение ВТС с ФДТ является методом выбора при лечении пациентов с НМРЛ, осложненным метастатическим плевритом, и может существенно повысить продолжительность и улучшить качество жизни этой категории пациентов.

Т.Н. Андреева¹, Т.А. Кармакова¹, А.А. Панкратов¹, Р.И. Якубовская¹, Б.Я. Коган², А.В. Бутенин²

ИМПУЛЬСНАЯ ЛАЗЕРНАЯ ГИПЕРТЕРМИЯ С НАНОСТРУКТУРАМИ ФТАЛОЦИАНИНОВОЙ ПРИРОДЫ: МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ

¹ФГУ «МНИОИ им. П.А.Герцена Минздравсоцразвития России», Москва

²ФГУП «ГНЦ НИОПИК», Москва

Цель исследования. Изучение механизма противоопухолевого действия импульсной лазерной гипертермии (ИЛГ) с наночастицами (Нч) в качестве сенситизаторов. Одним из процессов, который приводит к деструктивным изменениям в опухолевой ткани при ИЛГ, является ишемия, возникающая вследствие эмболизации и/или разрушения кровеносных сосудов в результате «микровзрывов» Нч под действием высокоэнергетических лазерных импульсов.

Материалы и методы. Исследования проводили на мышцах с саркомой S-37.В качестве термосенситизаторов использовали Нч фталоцианина цинка (PcZn), которые вводили однократно внутривенно в дозах от 3

до 7 мг/кг. Опухолевый узел облучали лазерными импульсами: $\lambda = 0,694$ мкм; плотность энергии в импульсе – $0,6$ Дж/см²; суммарная плотность энергии за сеанс облучения – 30 Дж/см². Выявление микрососудов в тканях проводили методом гистоиммунохимического окрашивания с использованием МКА к антигену эндотелия CD31. Количество микрососудов в опухолевом образовании и окружающих тканях подсчитывали в световом микроскопе при 20-кратном увеличении.

Результаты. Сразу после процедуры ИЛГ, а так же в последующие 24 часа в опухоли и окружающих тканях в области воздействия наблюдали резкое снижение (в 7 раз) плотности микрососудов с $39,3 \pm 16,5$ до $6 \pm 2,9$ сосудов в поле зрения. При гистологическом исследовании препаратов в области трансплантации опухоли наблюдалась бесструктурная ткань с единичными жизнеспособными опухолевыми клетками. При дозе Нч PcZn 3 мг/кг, начиная с 4 суток после лечения, на границе опухоли – мышца отмечали увеличение плотности сосудов в 9 раз: с $8,69 \pm 6,9$ до $76 \pm 29,3$ сосудов в поле зрения. При этом выявлена положительная корреляция между интенсивной регенерацией сосудистой сети в этой зоне и возобновлением роста опухоли. У животных, которым вводили Нч PcZn в дозе 7 мг/кг, на 4 и 7 сутки после лечения опухолевый узел не детектировался. Плотность сосудов у животных этой опытной группы и у животных контрольной группы в подкожной клетчатке и мышце была сопоставимой.

Выводы. Таким образом, в процессе процедуры ИЛГ происходит разрушение микрососудов в опухолевом узле и окружающих опухоль тканях, которое лежит, по-видимому, в основе одного из механизмов противоопухолевого действия данного вида лечения: ишемической гибели опухолевых клеток по типу некроза.

Н.Ю. Анисимова¹, В.А. Даванков², М.И. Будник¹, Т.С. Спирина², М.В. Киселевский¹

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НАНОПОРИСТЫХ СОРБЕНТОВ РЯДА СТИРОСОРБ

ДЛЯ ЭЛИМИНАЦИИ БАКТЕРИЙ ИЗ КРОВИ БОЛЬНЫХ СЕПСИСОМ

¹РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

²Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, Москва

Задачи исследования. Современные гемосорбенты, используемые при сепсисе, позволяют элиминировать из системного кровотока триггерные факторы воспаления (бактериальные эндотоксины, цитокины). Однако применяемые в клинике сорбенты не обладают способностью связывать бактериальные клетки. Поэтому для повышения эффективности лечения больных с сепсисом, необходим поиск новых сорбентов, способных удалять микроорганизмы из кровотока пациента. Одним из перспективных направлений в этом плане представляется использование в качестве гемосорбентов сверхсшитых полистиролов ряда Стиросорб, которые могут элиминировать из биологических жидкостей соединения с самыми различными физико-химическими свойствами.

Материалы и методы. В пробирки с кровью здоровых доноров вводили взвесь *S. aureus* и *K. pneumoniae pneumoniae*. Подготовленную таким образом кровь пятикратно пропускали под давлением через макеты гемосорбционных колонок, заполненных тестируемыми сорбентами ряда Стиросорб (414, 514, 516). Далее производили посев на чашки с плотной питательной средой равных объемов крови после процедуры гемосорбции и крови, не подвергавшейся контакту с сорбентом. Учет результатов проводили, вычисляя показатель торможения колониеобразования гемокультуры.

Результаты и выводы. Выявленное значительное снижение колониеобразования *S. aureus* в гемокультуре после гемосорбции (на 51–88 %) с высокой степенью вероятности может рассматриваться как результат связывания с использованным сорбентом бактериальных клеток, т.е. их элиминации из крови. Эффект торможения колониеобразования *K. pneum. pneumoniae* после контакта крови с сорбентами был выражен менее ярко и не превышал 10 %. Среди протестированных сорбентов наиболее эффективен был Стиросорб 414. *S. aureus* и *K. pneumoniae pneumoniae* характеризуются различными размерами, формой, структурными и биохимическими характеристиками внешней мембраны и, вероятно, именно этим был обусловлен различный эффект применения тестируемых сорбентов к данным культурам. Полученные данные позволяют рассматривать сверхсшитые полистиролы ряда Стиросорб в качестве перспективных гемосорбентов для лечения больных сепсисом.

Г.Н. Апрышко

**ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ
ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ
СУБСТАНЦИИ
ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ОНКОЛОГИИ
ИЗ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ПРИРОДНЫХ
ОБЪЕКТОВ (ПО МАТЕРИАЛАМ БАНКА
ДАННЫХ ПО ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМ
ВЕЩЕСТВАМ РОНЦ)**

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Значительное число лекарств и биологически активных добавок, состоящих из индивидуальных веществ или их смесей, выделяемых из различных природных объектов, используются для лечения, первичной и вторичной профилактики опухолей, повышения иммунитета и улучшения качества жизни онкологических больных.

В РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, начиная с 1952 г. по настоящее время, систематически исследуются в качестве противоопухолевых веществ экстракты, их различные фракции и очищенные вещества из различных природных объектов. В группе Банка данных накоплен архив первичных документов с результатами этих испытаний. Содержащаяся в них информация структурирована и содержится в электронном виде в Базе данных (БД) по противоопухолевым веществам. БД использована для компьютерного анализа с целью систематизации информации, выявления биологических видов, перспективных для выделения из них новых потенциальных лечебно-профилактических субстанций для применения в онкологии.

В настоящее время в БД зарегистрированы 1785 объектов природного происхождения. Это преимущественно экстракты или их фракции, выделенные из высших растений, грибов, лишайников, микроорганизмов, морских и пресноводных водорослей, морских животных, собранных на территории России и республик СНГ. Наиболее представительная группа – высшие растения.

При изучении 1280 экстрактов из 490 видов растений выявлена значимая противоопухолевая активность *in vivo* для экстрактов из 99 видов. Показательно наличие противоопухолевой активности у экстрактов из 7 видов трутовиков.

Наиболее интересна полисахаридная фракция экстракта трутовика киноварно-красного (циннабарин), индуцировавшая 60–79 % торможения роста опухолей и 40–177 % увеличения продолжительности жизни животных с опухолями.

Выявлены биологические виды, заслуживающие внимания как источники нетоксичных лечебно-профилактических субстанций, экстракты из которых, проявляя значимую противоопухолевую активность в опытах на животных, не показали цитотоксической активности при изучении в культурах опухолевых клеток. Для ряда активных природных субстанций, исследование которых было прекращено по различным причинам, целесообразно возобновить исследования, используя современные технологии.

О.Ю. Аршинова, А.П. Полозкова Н.А. Оборотова, О.Л. Орлова, Ю.В. Родионова

**ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ
ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ
ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ
ФОТОДИТАЗИНА – СЕНСИБИЛИЗАТОРА
ДЛЯ ФДТ ОПУХОЛЕЙ**

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Введение. Важной проблемой в фармацевтической технологии является стабилизация лекарственных веществ. Стабильность гидролитически неустойчивых и термолабильных соединений, в том числе противоопухолевых препаратов, может обеспечить процесс лиофилизации. В настоящее время выпускается и используется в клинике лекарственная форма фотодитазина в виде концентрата для приготовления раствора для инфузий (5 мг/мл). В связи с неустойчивостью при хранении водного раствора препарата в РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН предложена лиофилизированная лекарственная форма фотодитазина.

Цель исследования. Разработка технологии получения лиофилизированной лекарственной формы фотодитазина.

Материалы и методы. Фотодитазин в виде концентрата для приготовления раствора для инфузий стерилизовали путем фильтрации через фильтры Millipore Express™ PLUS с размером пор 0,22 мкм и разливали по 5 мл во флаконы вместимостью 30 мл. Флаконы с препаратом помещали на полки сублимационной камеры Minifast DO.2 (Edwards, Великобритания) при температуре $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ и охлаждали их до -50°C .

После достижения препаратом температуры -45°C его выдерживали при этой температуре в течение 3 ч (стадия замораживания). Затем включали вакуум, полки выдерживали при -50°C и давлении в камере $6,5 \times 10^{-2}$ мБар еще 3 ч, после чего их нагревали от -50°C до -5°C со скоростью $5^\circ\text{C}/\text{ч}$ и выдерживали при -5°C в течение 3 ч. Далее полки нагревали от -5°C до $+5^\circ\text{C}$ со скоростью $2,5^\circ\text{C}/\text{ч}$, а от $+5^\circ\text{C}$ до $+20^\circ\text{C}$ со скоростью $5^\circ\text{C}/\text{ч}$ (сублимационная сушка). По достижении препаратом температуры $+20^\circ\text{C}$ его выдерживали при этой температуре в течение 3–4 ч (досушивание). Общее время сушки составило 26–28 ч. По окончании процесса сушки вакуум в сублимационной камере гасили стерильным воздухом, пропущенным через фильтр Millipore с размером пор 0,22 мкм. Флаконы с препаратом выгружали из камеры, укупоривали и, предварительно проанализировав, помещали в камеру бытового холодильника.

Результаты и выводы. С помощью разработанной технологии получены шесть серий препарата «Фотодитазин, лиофилизат для приготовления раствора для инфузий 25 мг». Процесс сублимации не влияет на показатели качества препарата. Все серии заложены на хранение с целью дальнейшего анализа и установления срока годности.

А.Н. Балаев, В.Н. Осипов, К.А. Охманович, В.Е. Федоров
**ОПТИМИЗАЦИЯ ПОЛУЧЕНИЯ
 Н-PHE-D-TRP-LYS(ε-BOC)-THR-OME –
 КЛЮЧЕВОГО
 ТЕТРАПЕПТИДНОГО ФРАГМЕНТА СИНТЕЗА
 АНАЛОГОВ СОМАТОСТАТИНА**
 ЗАО "Фарм-Синтез", Москва

Задачи исследования. Разработка простого и легко масштабируемого способа получения защищенного тетрапептида Н-Phe-D-Trp-Lys(ε-Boc)-Thr-OMe, являющегося ключевым полупродуктом синтеза аналогов соматостатина, в частности Октреотида и производных Цифетрелина.

Материалы и методы. Соматостатин – пептидный гормон, состоящий из 14 аминокислотных остатков, является весьма эффективным при лечении опухолевых заболеваний и акромегалии. Представляет интерес получение аналогов соматостатина, обладающих большей избирательностью и продолжительностью действия. Наиболее распространен и известен Октреотид (Сандостатин), который является синтетическим аналогом соматостатина со сходными с ним фармакологическими эффектами и значительно большей продолжительностью действия. Исследования последних лет показали, что и более короткие пептиды могут обладать сопоставимым с Октреотидом физиологическим действием. Так, пентапептид Цифетрелин при сравнительных исследованиях на животных совместно с Сандостатином обладал равной противоопухолевой активностью.

Результаты. Разработанная нами схема получения тетрапептида позволила исключить токсичные (цезиевые соли, иодистый метил) и значительно сократить дорогостоящие (палладиевые соли) реагенты. Существенно сокращено количество стадий синтеза. Разработанный способ позволяет получать ключевой тетрапептид в полупромышленном масштабе и в настоящее время используется при производстве Октреотида на ЗАО "Фарм-Синтез".

Выводы. В результате проделанной работы отработан и внедрен в производство новый способ получения Н-Phe-D-Trp-Lys(ε-Boc)-Thr-OMe. Предложенный способ отличается простотой и позволяет получать целевой тетрапептид в полупромышленном масштабе.

Н.В. Балацкая², Н.А. Гольдина², М.В. Будзинская¹,
 И.В. Щеголева¹, С.Г. Кузьмин²

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПРИЕМЫ МОНИТОРИНГА ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

¹Научно-исследовательский институт глазных болезней РАМН, Москва

²ГУП МНКЦ «Интермедбиофизхим» Москва

Благодаря преимуществам ФДТ перед традиционными методами лечения в последнее время значительно расширились рамки применения этого метода как в онкологической, так и неонкологической практике. Ведутся научные исследования по использованию ФДТ в дерматологии, ангиокардиологии, офтальмологии, гинекологии. Разрабатываются новые виды фотосенсибилизаторов (ФС). Получены многочисленные данные о механизмах фотодинамического воздействия. Тем не менее, до сих пор до сих пор не разработаны объективные критерии, являющиеся основанием для показания/противопоказания назначения ФДТ, использования в прогнозе и мониторинге лечения.

Задача исследования. Разработать приемы мониторинга ФДТ в комбинации с Авастином при лечении больных с субретинальной неоваскулярной мембраной (СНМ).

Материалы и методы. Материал для лабораторных исследований – сыворотка и гемолизат крови пациентов. Кровь забирали с 8 до 9 ч утра натощак из локтевой вены с помощью стандартных вакуумных систем «BD VACUTAINER™» в пробирки для сбора плазмы крови, сыворотки крови без активатора свертывания. Исследовали динамику показателей про- и антиоксидантных реакций: малонового диальдегида МДА, общих перекисей (ОП), общего антиоксидантного статуса (ОАС), внутриэритроцитарных супероксиддисмутазы (СОД) и селензависимой глутатионпероксидазы (ГП), а также провоспалительные цитокины интерлейкин-6,8 (IL-6, IL-8), фактор некроза опухоли-α (9:27 -α). В качестве фотосенсибилизатора (ФС) при проведении ФДТ применяли препарат Фотосенс 0,2% раствор для инъекций (ФГУП «ГНЦ НИОПИК», Россия). Препарат вводили внутривенно в дозе 0,05 мг/кг. Длина волны лазера – 675 нм, экспозиционная световая доза 120 Дж/см². Препарат Авастин вводился эндовитреально в дозе 1,25 мг (0,05 мл) на 3 сутки после проведения ФДТ.

Результаты. До лечения системные нарушения антиоксидантной защиты (АОЗ) – снижение значения интегрального показателя ОАС, а также активация прооксидантных реакций – повышение концентраций ОП и МДА. Выявлен дисбаланс в системе ферментов АОЗ: высокая вариабельность показателя активности СОД на фоне тотально сниженной активности ГП. После проведения ФДТ развивалась однотипная реакция в системе АОЗ – существенное снижение ОАС, а в течение 1 года после ФДТ отмечено сохранение и прогрессирование сформированного дисбаланса ферментов АОЗ.

Клинические наблюдения показали, что особую трудность в лечении составляют СНМ, сопровождающиеся обширными, массивными кровоизлияниями и экссудацией. В некоторых случаях после проведения ФДТ экссудация нарастала. У пациентов с ответной экссудативной реакцией показатели концентрации провоспалительных цитокинов в крови достоверно превышали таковые у больных без реактивного ответа на лазерное воздействие. В 4 случаях при превышении ИЛ-8 более 30,0 пкг/мл для купирования диффузного отека сетчатки использовании местное введение противовоспалительных препаратов.

Заключение. Таким образом, показатели системы про- и антиоксидантных реакций как основной мишени воздействия ФДТ – МДА, ОП, ОАС, активности СОД и ГП, а также провоспалительные цитокины IL-6, IL-8, 9:27 -α являются высокоинформативными параметрами при мониторинге фотодинамической терапии.

И.А. Балдуева^{1,2}, В.М. Моисеенко², М.Л. Гельфонд^{1,2},
 А.В. Новик¹, Т.Л. Нехаева^{1,2}, О.Л. Фахрутдинова¹,
 А.Б. Данилова¹, А.О. Данилов¹, С.А. Проценко¹

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВАКЦИНОТЕРАПИИ КОСТНОМОЗГОВЫМИ ДК В СОЧЕТАНИИ С ФДТ У БОЛЬНЫХ С ИССЕМИНИРОВАННОЙ МЕЛАНОМОЙ КОЖИ

¹ФГУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздравсоцразвития России, Санкт-Петербург

²Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования

Вакциноterapia ДК в сочетании с ФДТ относится к перспективным направлениям биотерапии и представляет собой попытку преодоления иммунологической толерантности и получения противоопухолевого эффекта.

Задачи исследования. Оценить клиническую и иммунологическую эффективность вакцинации аутологичными несенсибилизированными костномозговыми ДК, введенными в опухоль, сенсибилизированную с помощью нового отечественного фотосенсибилизатора второго поколения Фотодитазин, и лазерного облучения аппаратом «Латус-2» у больных диссеминированной меланомы кожи, резистентных к стандартным методам лечения.

Материалы и методы. В исследование были включены 7 больных, получавших лечение в ФГУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздравсоцразвития России с 2007 по 2010 г. Технология приготовления ДК-вакцины заключалась в: 1) мобилизации предшественников ДК из костного мозга в периферическую кровь с помощью G-CSF; 2) операции афереза гемопоэтических стволовых клеток периферической крови; 3) дифференцировки ДК в присутствии GM-CSF (800 U/ml) и IL-4 (500 U/ml) в течение 5 дней; 4) программированной компьютерной криоконсервации и хранения (-196 °C) до использования.

Результаты. Незрелые ДК (3×10^6 клеток/кг веса пациента) вводили через 6 ч после сеанса ФДТ по периферии ФДТ-сенсибилизированной опухоли. Курс лечения состоял из сеанса ФДТ и последующих вакцинаций в течение 5 дней. Интервал между курсами – 14 дней. Пациенты получили от 10 до 15 введений вакцины. У 2 больных был зарегистрирован минимальный регресс (MR/PR 4 и 5 мес.), у 2 пациентов – стабилизация заболевания (3 и 3 мес. +), у 3 больных – прогрессирование заболевания. Реакция ГЗТ наблюдалась у 5 (79 %) из 7 вакцинированных больных; патоморфологический регресс отдаленного очага зарегистрирован у 1 (14 %) пациента.

Выводы. Вакциноterapia костномозговыми ДК в сочетании с ФДТ после второй и последующих линий противоопухолевой терапии хорошо переносятся больными и сопровождается клиническим и иммунологическим эффектом.

А.Е. Бармашов, К.Д. Никитин, И.Н. Михайлова, Л.Ф. Морозова, А.Н. Ишаков, К.А. Барышников, Л.В. Демидов, А.Ю. Барышников

ОЦЕНКА ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ИММУНИТЕТА МЕТОДОМ ELISPOT У БОЛЬНЫХ, ПОЛУЧАЮЩИХ ВАКЦИНУ «МЕЛАВАК» *РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва*

Задачи исследования. Оценить число интерферон- γ -продуцирующих клеток среди лимфоцитов, инкубируемых с опухолевым лизатом, нестимулированных и активированных фитогемагглютинином (ФГА) на разных этапах вакцинации.

Материалы и методы. Для работы были использованы мононуклеары периферической крови; клетки линии mel Kog, из которой впоследствии был получен опухолевый лизат. Иммунизация больных вакциной «Мелавак» проводилась в дозе 30 млн облученных опухолевых клеток с интервалом раз в 2 недели. На разных этапах вакцинации проводился забор крови, условно обозначенный: «точка». Число интерферон- γ -продуцирующих клеток (ИФН- γ -продуцирующих клеток) определялось методом ELISPOT по числу пятен на мембране плейта.

Результаты и выводы. Изучалась продукция интерферона- γ (ИФН- γ) лимфоцитами крови 10 больных меланомой (IV стадии), получавших вакцину «Мелавак». У 7 пациентов число ИФН- γ -продуцирующих клеток было примерно равным в

опытной пробе (инкубация с лизатом) и в отрицательном контроле (нестимулированные клетки). В процессе иммунизации число клеток секретирующих интерферон- γ в отрицательном контроле увеличивается у 2 пациентов. Неспецифический иммунный ответ на ФГА в ряде случаев у одних и тех же больных изменяется на разных этапах вакцинации: либо сначала увеличивается, а потом уменьшается, либо наоборот. В опытной пробе в 50 % случаев данный показатель оставался неизменным в процессе вакцинации. В 20 % случаев – уменьшался. У 3 пациентов – увеличивался. На основании полученных результатов можно заключить, что исследование иммунного ответа методом ELISPOT у пациентов с диссеминированной меланомой кожи (IV стадии) на фоне иммунизации вакциной «Мелавак» выявило активацию мононуклеарных клеток периферической крови у 30 % больных.

И.И. Басиева¹, Л.З. Болиева¹, А.В. Сергеев² **ВЛИЯНИЕ МИКРОНУТРИЕНТОВ С АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТЬЮ НА ВОЗНИКНОВЕНИЕ САРКОМ, ИНДУЦИРОВАННЫХ У КРЫС 7,12-ДИМЕТИЛБЕНЗАНТРАЦЕНОМ**

*¹ГОУ ВПО СОГМА Росздрава, Владикавказ
²РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва*

Частота заболевания раком пищевода варьирует в широких пределах. Так в России очень высокие показатели заболеваемости с выраженной тенденцией к росту отмечены в ряде регионов Сибири и Дальнего Востока и среди некоторых этнических групп населения – каракалпаков, калмыков, якутов и др. В связи с этим представляется целесообразным проведение мероприятий по первичной лекарственной профилактике злокачественных новообразований данной локализации в указанных группах.

Цель исследования. Изучение влияния витаминного комплекса Каскарутол на возникновение опухолей пищевода, индуцированных у крыс N-метил-N-бензилнитрозаминном (МБН).

Материалы и методы. Эксперимент проведен на 50 крысах-самцах линии Вистар с исходной массой 120–130 г. Для индукции опухолей пищевода крысам вводили МБН по описанной методике с питьевой водой в разовой дозе 0,5 мг/кг в 10% растворе этилового спирта в течение 8 недель. Животные были разделены на 2 группы. 25 крыс 1-й группы служили контролем, 25 крыс 2-й группы получали с кормом Каскарутол (ОАО «Холдинг ЭДАС») по 4 драже/кг массы тела. Антикацерогенную активность оценивали по изменению числа животных с новообразованиями пищевода и индекса множественности.

Результаты. В контрольной группе новообразования пищевода развились у 100 % животных. Каскарутол приводил к снижению частоты возникновения новообразований до 56 %, индекса множественности в 2,1 раза по сравнению с контролем. Микроскопический анализ опухолевого материала выявил снижение степени малигнизации неопластических изменений в опытных группах по сравнению с контролем. Было также отмечено статистически достоверное повышение выживаемости животных при применении Каскарутола по сравнению с животными контрольной группы.

Выводы. Результаты эксперимента свидетельствуют о наличии у Каскарутола химиопрофилактической активности в отношении канцерогенеза пищевода, индуцированного МБН.

Полученные данные позволяют рекомендовать клиническое изучение данной комбинации микронутриентов с целью их дальнейшего внедрения в практику в качестве средств профилактики рака пищевода.

О.В.Белова¹, В.Я.Арион¹, З.С.Смирнова², Л.М.Борисова², М.П.Киселева², Т.А.Луканидина¹, И.В.Зиминая¹, С.Н.Москвина¹

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА ИЗ КОЖИ К-АКТИВИНА

¹ФГУ «НИИ физико-химической медицины» ФМБА

России, Москва

²РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Цель исследования. Изучение противоопухолевой активности препарата К-активин на перевиваемой саркоме 180 мышей.

Материалы и методы. Опухоль – перевиваемая саркома 180 (S 180). Животные – беспородные мышисамцы весом 18–25 г. Препарат К-активин вводили через 48 ч после перевивки опухоли в течение 5 дней ежедневно. Методы введения – подкожный и внутрибрюшинный, дозы 5 мг/кг, 10 мг/кг и 20 мг/кг веса. Противоопухолевый эффект оценивали по торможению роста опухоли и увеличению продолжительности жизни подопытных животных.

Результаты. К-активин – иммунотропный препарат, выделенный из кожи свиньи. Содержит в своем составе пептиды, РНК и углеводы. Обладает иммунобиологической активностью: стимулирует Т- и В-системы иммунитета, повышает уровень сывороточной тимической активности у тимэктомизированных мышей, ингибирует пролиферацию и стимулирует дифференцировку кератиноцитов человека в первичной культуре, ингибирует пролиферацию эпидермоидных клеток карциномы человека А431 и эмбриональных фибробластов человека в культуре клеток. В результате проведенных исследований выявлен слабый, но статистически значимый противоопухолевый эффект препарата К-активин в дозе 20 мг/кг при ежедневном внутрибрюшинном введении в течение 5 дней у трех мышей (ТРО = 56 %). Показано, что, несмотря на низкий противоопухолевый эффект К-активина по критериям торможения роста опухоли и увеличения продолжительности жизни по сравнению с контрольными животными, препарат в дозах 10 до 20 мг/кг при подкожном и внутрибрюшинном введении в течение 5 дней вызывает излечение одной или двух мышей в зависимости от дозы. Препарат проявлял высокую токсичность при внутрибрюшинном введении независимо от вводимой дозы.

Выводы. Целесообразно продолжить работу по изучению противоопухолевой активности К-активина при других дозах с использованием перевиваемой саркомы 180 (S 180), а также провести дальнейший поиск чувствительных к К-активину экспериментальных опухолей.

Т.В. Белова, Е.С. Плеханова, Д.В. Новиков, А.В. Калугин, А.В. Алясова, В.В. Новиков

ВСТРЕЧАЕМОСТЬ мРНК РАКОВО-ТЕСТИКУЛЯРНЫХ ГЕНОВ В КЛЕТКАХ ОПУХОЛЕВОГО ОЧАГА ПРИ РАКЕ ЛЕГКОГО

НИИ молекулярной биологии и региональной экологии ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород Нижегородская государственная медицинская академия

Задачи исследования. Среди антигенов, экспрессия которых часто наблюдается при злокачественных новообразованиях различного генеза, выделяют также группу

раково-тестикулярных антигенов (СТ). На данный момент не предпринималось попыток проводить анализ совместной встречаемости мРНК HAGE, MAGE-C, XAGE, SSX, NY-ESO генов в клетках опухолевого очага при раке легкого. Задачей данного исследования стало изучение встречаемости мРНК HAGE, MAGE-C, XAGE, SSX, NY-ESO генов в клетках опухолевого очага на разных стадиях развития рака легкого.

Материалы и методы. С использованием гнездовой ОТ-ПЦР было проанализировано 32 образца клеток опухолевого очага больных на I–III стадиях рака легких. Визуализацию данных ПЦР проводили с помощью электрофореза в агарозном геле.

Результаты и выводы. В 28 из 32 (87 %) протестированных образцов клеток опухолевых очагов была выявлена мРНК раково-тестикулярных генов. В том числе на первой стадии суммарная частота выявления составила – 87 % (7 из 8 проб положительны), на второй – 71 % (5 из 7 проб положительны) и на третьей – 100 % (5 из 5 проб положительны). Наиболее часто в клетках опухолевого очага обнаруживалась мРНК SSX гена – в 27 пробах из 32 протестированных (84 %). В том числе на первой стадии мРНК SSX гена выявлялась в 87 % (7 из 8 образцов положительны на SSX), на второй – в 71 % (5 из 7) и на третьей – 100 % (5 из 5). Матричная РНК HAGE и XAGE была выявлена в меньшем количестве протестированных образцов клеток опухолевого очага рака легкого – в 19 (59 %) и 16 (50 %) случаях соответственно. HAGE и XAGE мРНК была выявлена в 6 (75 %) и 5 (62 %) пробах на первой стадии, в 4 (57 %) и 1 (14 %) образцах на второй и 4 (80 %) и 3 (60 %) на третьей стадии рака легких. В клетках опухолевого очага матричная РНК NY-ESO и MAGE-C была обнаружена только в одной и трех пробах соответственно на третьей стадии развития опухоли легкого. На других стадиях заболелания мРНК этих генов выявлена не была. Таким образом, частота выявления мРНК раково-тестикулярных генов была неоднородна для каждого из исследуемых генов. Максимально часто на всех стадиях развития опухоли легкого детектировалась мРНК SSX, минимальная частота встречаемости была показана для мРНК NY-ESO и MAGE-C генов.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России».

Ю.А. Белый, А.В. Терещенко

ПОЗИЦИОНИРОВАНИЕ ЭЛЕКТРОДОВ ДЛЯ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО ЛИЗИСА В ОФТАЛЬМОЛОГИИ

Калужский филиал ФГУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова»

Цель исследования. Разработка комбинированного метода позиционирования электродов и гистоморфологическая оценка эффективности его применения для электрохимического лизиса больших внутриглазных новообразований в эксперименте.

Материал и методы. ЭХЛ был проведен на 2 свежезнуклеированных глазах с опухолями больших размеров: проминенция – 11 и 12 мм, наибольший диаметр основания – 16 и 19 мм соответственно. ЭХЛ проводили с электрическим зарядом 27–35 Кл при помощи аппарата «ECU-300» («Soring», Германия). Использовали два электрода: анод – поверхностный электрод, и катод – интрастромальный электрод. Анод был выполнен в виде сетки из платиновой проволоки с круглым отверстием в центре. Катодом служил игольчатый электрод из платиновой проволоки толщиной 0,5 мм.

Для осуществления ЭХЛ анод накладывали на склеру в предварительно намеченных границах основания опухоли и подшивали двумя узловыми швами. Катод вводили при помощи троакара и канюли 25 G перпендикулярно склере в центре основания опухоли через отверстие в аноде. Выполнены патоморфологические исследования глаз.

Результаты. В результате оценки морфологических изменений на вершущке опухоли отмечены: деструктивные процессы с фрагментацией клеток, разрушение их ядер (кариопикноз, кариорексис), конденсация пигмента, появление щелевидных пространств на месте сосудов с лизированной кровью и пустот по контурности полисадных структур. В средней части выявлено полное разрушение клеток: пустоты напоминают контуры отдельных клеток и просветы разрушенных сосудов. Видимая ткань представлена бесклеточным детритом, уплотненным за счет давления жидкой субстанцией, содержащейся в пустотах. В присклеральной части опухоли морфологическая картина напоминала таковую в средней части, но с меньшим размером полостей и отсутствием в этом участке сосудов.

Заключение. Методика ЭХЛ обеспечивает полное разрушение опухолевой ткани в зоне воздействия электродов. Использование поверхностного электрода позволяет направить электрохимическую деструкцию на всю площадь основания опухоли. Сочетание поверхностного и интрастромального электродов дает возможность минимизировать нарушение целостности склеры в зоне проекции основания опухоли. Необходима дальнейшая оптимизация параметров ЭХЛ.

А.В. Белявский¹, В.П. Краснов², Г.Л. Левит²,
Ф.Н. Розов¹, Т.С. Гринько¹

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРЕПАРАТА ЛИЗОМУСТИН ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ КЛЕТОК

¹Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

²Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН, Екатеринбург

Эффективный перенос генов в стволовые кроветворные клетки (СКК) необходим для успешной генной терапии заболеваний гемопоэтической и иммунной системы. Одной из наиболее перспективных стратегий для увеличения доли СКК, несущих встроенные терапевтические последовательности, является использование системы селекции *in vivo* с помощью мутантной формы фермента Об-метилгуанин-ДНК метилтрансферазы (МГМТм) в сочетании с обработкой алкилирующими ДНК агентами.

В данной работе мы показали, что клетки, экспрессирующие МГМТм, могут быть селективированы с помощью лизомустина, отечественного противоопухолевого алкилирующего препарата из класса нитрозоалкилмочевин. Лизомустин был получен по стандартной методике, входящие в его состав изомеры положения нитрогруппы были выделены методом ВЭЖХ. Экспрессия МГМТм в клетках лейкоцитарной линии К562 и первичных клетках костного мозга мыши защищает их от цитотоксического действия лизомустина. Обнаружены значительные различия в последствиях воздействия индивидуальных изомеров лизомустина на клетки К562 в культуре. На мышинной модели мы также показали, что можно достичь специфической экспансии гемопоэтических клеток, экс-

прессорирующих МГМТм, *in vivo* после трансплантации сублетально облученным реципиентам и селекции с помощью лизомустина.

Полученные данные свидетельствуют о том, что лизомустин может быть использован как эффективный селектирующий агент, потенциально применимый для генной терапии заболеваний гемопоэтической и иммунной системы.

Ю.В. Береснева¹, Ф.А. Ибрагимов¹,
М.С. Гильдиева², Абдувалиев А.А.²

ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВОГО КОМПЛЕКСА SP-2 НА КЛЕТКИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ГЕНЕТИЧЕСКИМИ ТРАНСФОРМАЦИЯМИ

¹Институт биоорганической химии АН РУз, Ташкент

²Республиканский онкологический научный центр, Ташкент

Задачи исследования. Изучить влияние белкового комплекса sp-2 (soybean proteins) из шрота сои на клетки рака молочной железы с отсутствием рецепторов к эстрогенам и прогестерону.

Материалы и методы. Опухолевый материал, был получен от пациенток, после полихимио- и лучевой терапии. Иммуногистохимическое исследование проводили стрептавидин-биотин пероксидазным методом по общепринятой схеме на залитых парафином препаратах. Были использованы мышинные моноклональные антитела против рецепторов к эстрогенам (клон 6F11) и мышинные моноклональные антитела против рецепторов к прогестерону (клон 1A6) производства фирмы «Novocastra» (Англия). Затем образцы опухолевых клеток культивировали *in vitro* в ростовой среде. Для определения степени антипролиферативных эффектов белкового комплекса sp-2 на слой клеток рака молочной железы средней плотности воздействовали соевым белком и определяли степень деструкции (СД%) слоя раковых клеток, т.е. выражали в % площадь погибших клеток.

Результаты. В 2 исследованных пробах наблюдалась положительная реакция на рецепторы эстрогенов и прогестерона: в первой пробе экспрессия рецепторов к эстрогенам составила 210 Н-баллов, экспрессия рецепторов к прогестерону составила 230 Н-баллов; во второй – 250 Н-баллов и 130 Н-баллов соответственно. При иммуногистохимическом исследовании опухолевого материала третьей пробы экспрессия рецепторов к эстрогенам отсутствовала, экспрессия рецепторов к прогестерону была слабой (60 Н-баллов). В случае его применения в группе, где опухолевый материал с высокой степенью экспрессии рецепторов, степень деструкции опухолевой ткани была 41,0±4,91 %, тогда как в случае воздействия соевого протеина на раковые клетки другого генеза – отсутствие экспрессии рецепторов к эстрогенам и слабая экспрессия рецепторов к прогестерону – степень деструкции опухолевой ткани была выше (56,0±4,96 %).

Вывод. Выделенный белковый комплекс способен помочь в преодолении лекарственной устойчивости клеток рака молочной железы с генетическими нарушениями.

Х.А. Бигвава, Е.Г. Славина, А.И. Черткова,
Т.Н. Заботина, А.А. Борунова, З.Г. Кадагидзе
**ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМБИНИРОВАНИЯ
ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ
(АЛЬНОРИН) С ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМИ
ПРЕПАРАТАМИ НА КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ
МЕЛАНОМ**

РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН, Москва

Задачи исследования. Меланома – злокачественная опухоль кожи, характеризующаяся патологической пролиферацией меланоцитов. Большинство метастатических меланом устойчиво к разнообразным химиотерапевтическим препаратам. За последние годы некоторые успехи были достигнуты в лечении больных меланомой комбинацией химиотерапии и рекомбинантного ФНО- α – альнорина (Государственный научный центр «Вектор», Россия).

В настоящем исследовании мы попытались прояснить некоторые проблемы относительно взаимодействия противоопухолевых препаратов и ФНО- α .

Материалы и методы. Мы использовали 8 клеточных линий меланом, полученных Л.Ф. Морозовой (лаборатория экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей НИИ ЭДнТО РОНЦ им. Н.Н. Блохина) из операционного материала больных. Клетки инкубировали с различными концентрациями ACNU (4 линии), BCNU (4 линии) или DTIC (8 линий) $\pm$ 25–500 МЕ/мл альнорина (концентрации, не вызывающие цитотоксичности и апоптоза) в течение 24, 48 или 72 ч. Цитотоксичность (ЦТ) регистрировали с помощью МТТ-теста, а индукцию апоптоза (Ап) методом проточной цитофлюориметрии, используя двойное окрашивание клеток пропидий йодидом и аннексином V-FITC. Для исследования экспрессии апоптозрегулирующих молекул использовали моноклональные антитела к CD95, bcl2 и bax.

Результаты. У клеточных линий меланом была различная чувствительность к ЦТ противоопухолевых препаратов. Альнорин (А) усиливал чувствительность к цитотоксическому и апоптозиндуцирующему действию DTIC, но только в устойчивых, 3 из 8 клеточных линий, в клетках 1 из 4 линий к ЦТ ACNU и всех 4 линий к ЦТ действию BCNU.

Альнорин увеличил индукцию Ап на резистентных линиях: у 2 из 6 к DTIC и на 1 из 3 линий к BCNU. Мы изучили влияние альнорина к экспрессии апоптозрегулирующих молекул CD95, bcl-2 и bax в клетках меланом. Сам альнорин не изменял процент CD95⁺ клеток меланомы.

Но в сочетании с DTIC он увеличил процент CD95⁺ клеток в 2 из 4 клеточных линий. Альнорин снизил процент bcl-2⁺ в 1 из 2 линий обработанных DTIC, но не изменилось число bax⁺ клеток.

Заключение. ФНО- α (альнорин) увеличивает *in vitro* чувствительность клеток меланомы к цитотоксическому и апоптозиндуцирующему эффекту противоопухолевых препаратов и модулирует экспрессию апоптозрегулирующих молекул CD95 и bcl-2.

Т.Н. Богатыренко¹, З.В. Куроптева²,
Л.М. Байдера², Н.П. Коновалова¹
**ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМА
ПОВЫШЕНИЯ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО
ДЕЙСТВИЯ ЦИКЛОФОСФАНА
С ПОМОЩЬЮ ДОНОРА ОКСИДА АЗОТА
И ГИДРОКСАМОВЫХ КИСЛОТ**

¹Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка,

²Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля, Москва

В предыдущих работах на модели лейкоза Р-388 нами было показано, что введение нитросоединений, при восстановлении которых в организме образуется оксид азота, в комбинацию циклофосфана и гидроксамовых кислот, кроме увеличения продолжительности жизни, приводит к 40% излечиванию животных при уменьшении терапевтической дозы в 6 раз. Работы по усилению действия цитостатиков являются актуальными, и изучение механизмов

действия, за счет которых происходят подобного рода эффекты, важными.

Цель исследования. Изучить изменения метаболических парамагнитных центров в тканях печени и крови животных после введения доноров оксида азота и гидроксамовых кислот.

Материалы и методы. Эксперименты проводили на мышях линии BDF₁, массой 20–22 г. Были использованы нитрат и нитрит натрия (в качестве доноров оксида азота), аспарагилгидроксамовая и салицилгидроксамовая кислоты (синтезированные в ИПХФ РАН). Растворы исследуемых соединений вводили внутривенно. Через определенные промежутки времени по ранее описанной методике готовили образцы тканей (печени и крови). Измерения интенсивности парамагнитных центров (цитохрома Р-450, цитохрома Р-450-NO, Hb-NO) проводили на радиоспектрометре X-диапозона ER-220D фирмы «Брукер» (Германия) при температуре жидкого азота.

Результаты. Было показано снижение сигнала ЭПР цитохрома Р-450 уже через 15 мин после введения нитросоединений. Динамика изменения сигналов ЭПР цитохрома Р-450 в печени и крови прослеживалась вплоть до 4 ч после введения. Максимальное ингибирование сигнала цитохрома Р-450 наблюдалось через 30 мин после введения. Ферментативная система окисления НАДФН мембран эндоплазматического ретикула является местом гидроксирования самых разнообразных по своей природе химических соединений. Если эта важнейшая система детоксикации частично ингибирована, ксенобиотик медленнее будет подвергаться трансформации и выведению из организма. Мы предполагаем, что с образованием комплексов цит Р-450-NO и ингибированием системы гидроксирования эндоплазматического ретикула связано наблюдаемое нами усиление противоопухолевого действия циклофосфана и сенсibiliзирующее действие АГК в комбинации с ЦФ. Следует отметить, что хотя образование комплексов цит Р-450 обусловлено образующимся при восстановлении нитрата натрия оксидом азота, при введении ГК на фоне нитрата натрия наблюдалось пролонгированное образование комплексов цит Р-450 по сравнению с нитратом отдельно. При этом следует отметить, что биотрансформация ГК в ткани печени не приводила к появлению нитрозильных комплексов.

Выводы. Полученные данные позволяют предположить, что усиление генерации NO при сочетании введения гидроксамовых кислот и нитрата натрия, приводящее к пролонгации ингибирования активности цит Р-450 в первые часы после введения, ответственно за эффект повышения химиотерапевтического действия комбинации циклофосфана с гидроксамовыми кислотами.

Т.А. Богуш, Г.Б. Смирнова, Е.А. Дудко,
Р.Ю. Раманускайте, Н.О. Вихлянцева
**ВЛИЯНИЕ ТАМОКСИФЕНА
НА ИНДУЦИРОВАННЫЙ УРЕТАНОМ
КАНЦЕРОГЕНЕЗ ЛЕГКИХ У МЫШЕЙ
РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва**

Цель исследования. Основанием для настоящего исследования послужили две группы фактов. С одной стороны – эффективность тамоксифена при профилактике рака молочной железы у женщин в популяции высокого риска возникновения этого заболевания. С другой – описанные в последние годы молекулярные эффекты тамоксифена, не связанные с эстрогеновыми рецепторами, в частности ингибирование ангиогенеза, который является необходимым условием для роста

злокачественных опухолей и развития метастазов. Учитывая сказанное, в работе изучено влияние тамоксифена на индуцированный уретаном легочный канцерогенез у мышей.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на самцах мышей линии BALB/c с массой тела 20–22 г в возрасте 3 мес. по 25 животных в опытных и контрольной группах. Для индукции опухолей легких животным вводили внутривентриально уретан (УР) в дозе 0,125 мг/г 3 раза через день. Тамоксифен (ТАМ, Sigma) вводили внутримышечно в растворе касторового масла с 20% содержанием этилового спирта в дозе 12 мг/кг в объеме 0,05 мл/мышь 1 раз в неделю в течение 4 мес. и затем 2 раза в неделю в течение 2 мес. Животных забивали дислокацией шейных позвонков через 6 мес. после введения канцерогена в возрасте 9 мес. Легкие фиксировали в 10% растворе формалина. Количество аденом в легких подсчитывали под лупой с увеличением в 10 раз.

Результаты. 1). В группе интактного контроля аденомы обнаружены у 18 % животных при индексе множественности (количество аденом на мышь среди животных с аденомами) равном 1,0. 2). Количество животных с аденомами при введении УР или УР+ТАМ составило соответственно 77 % и 78 %. 3). Индекс множественности в группах УР и УР+ТАМ составил 1,7 и 1,4 соответственно. 4). Количество мышей с аденомами большого размера (диаметр опухоли > 2,5 мм) среди животных с аденомами в группах УР и УР+ТАМ составил 35 % и 6 % при индексе множественности 3,0 и 2,0 соответственно.

Выводы. Тот факт, что тамоксифен не повлиял на общее число опухолей, индуцированных уретаном, свидетельствует об отсутствии воздействия препарата на процесс инициации индуцированного уретаном легочного канцерогенеза. В то же время значительное (с 35 до 6 %) снижение количества аденом легких большого размера, отмеченное у животных, длительно получавших тамоксифен, указывает на ингибирование роста индуцированных опухолей при воздействии препарата. Наиболее вероятно, что в условиях описанного эксперимента, проведенного на самцах, причиной этого является упомянутый выше антиангиогенный эффект тамоксифена. Полученные результаты дают основание для дальнейшего исследования возможности применения тамоксифена по новому назначению – в качестве профилактического средства в группах повышенного риска рака легкого.

Исследование поддержано Грантами РФФИ № 10-04-00551-а и 11-04-00542-а.

Т.А. Богуш, М.В. Тихомиров, Е.А. Дудко, Э.Э. Джураев, К.К. Лактионов, Б.Е. Полоцкий
ЭКСПРЕССИЯ МАРКЕРА МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ MRP1 В КЛЕТКАХ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА И ОКРУЖАЮЩЕЙ НОРМАЛЬНОЙ ТКАНИ ЛЕГКОГО
РОИЦ им. Н.Н.Блохина РАМН, Москва

Цель исследования. В предыдущей работе мы показали, что фенотип множественной лекарственной резистентности немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) не предопределен экспрессией транспортного белка Pgp в нормальной ткани легкого и является независимым патогенетическим звеном в развитии опухолевого процесса (Богуш Т.А., Тихо-

миров М.В., Дудко Е.А. и др., 2010). Цель настоящего исследования – оценка вклада в формирование фенотипа множественной лекарственной резистентности НМРЛ экспрессии в нормальной ткани легкого транспортного белка MRP1.

Материалы и методы. Работа проведена на хирургических образцах опухолевой и окружающей нормальной ткани 32 пациентов НМРЛ. Экспрессию MRP1 исследовали методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител к MRP1 (Abcam), конъюгированных с FITC вторичных антител (Sigma) и соответствующих изотипических антител (Abcam). Для анализа специфической флуоресценции клеток использовали программу WinMDI. Долю специфически окрашенных клеток определяли методом Колмогорова-Смирнова. Проведено сравнение экспрессии MRP1 между клетками НМРЛ и окружающей нормальной ткани легкого по средним показателям в группе обследованных больных и у каждого из обследованных пациентов.

Результаты. 1. Не выявлено различий при сопоставлении средних показателей экспрессии MRP1 в группе обследованных больных между клетками НМРЛ и окружающей нормальной ткани легкого. Доля специфически окрашенных клеток составила 39,0 % и 32,8 %, а отношение специфической к изотипической флуоресценции клеток – 2,5 и 2,3 соответственно. 2. При сравнении показателей экспрессии MRP1 в нормальной и опухолевой ткани легкого индивидуально у каждого больного выявлены значительные различия. Совпадение отношения специфической флуоресценции клеток к изотипической и доли специфически окрашенных клеток в нормальной и опухолевой ткани отмечено только приблизительно в трети случаев соответственно. Среди остальных пациентов эти показатели в клетках НМРЛ были выше (в 56 и 68 % случаев), или ниже (в 44 и 32 % случаев), чем в нормальной ткани легкого.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о том, что экспрессия одного из основных маркеров множественной лекарственной резистентности MRP1 в ткани немелкоклеточного рака легкого не предопределена экспрессией этого транспортного белка в нормальной ткани легкого и является независимым патогенетическим звеном в развитии опухолевого процесса.

Это полностью совпадает с полученными ранее данными об экспрессии в опухолевой и нормальной ткани легкого Pgp и указывает на сходство роли этих транспортных белков в формировании фенотипа множественной лекарственной резистентности немелкоклеточного рака легкого.

Исследование поддержано Грантами РФФИ № 10-04-00551-а и 11-04-00542-а.

Т.Г. Боровская¹, М.Е. Полуэктова¹, А.В. Пахомова¹, Ю.А. Щемерова¹, О.А. Румпель¹, В.Г. Гольдберг¹, П.Г. Мадоннов¹, Д.Н. Киниш²
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРЕПАРАТА «МУЖСКОЙ ДИЭНАЙ» ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ОТДАЛЕННЫХ ПОСЛЕДСТВИЙ ТЕСТИКУЛЯРНОЙ ТОКСИЧНОСТИ ЦИТОСТАТИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

¹НИИ фармакологии СО РАМН, Томск
²ООО «СФМ», Новосибирск

Практически все мужчины в отдаленные сроки после химиотерапии имеют те или иные отклонения

в спермограмме, а в ряде случаев выявляется бесплодие, которое связано с повреждением источников пролиферативного пула – сперматогоний. Между тем значительная часть пациентов рассчитывает на восстановление фертильности.

Цель исследования. Изучить эффективность препарата «Мужской Дизнай» для профилактики тестикулярной недостаточности цитостатического генеза, выявляемой в отдаленные сроки после химиотерапии. Препарат находится на стадии доклинических исследований, в его состав входят гонады морских ежей. Установлена возможность его применения у пациентов, имеющих в анамнезе онкологическую патологию.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на 60 крысах-самцах популяции Вистар (возраст 3 мес.) на модели тестикулярной недостаточности, обусловленной истощением пролиферативного пула сперматогенеза, которое воспроизводилась однократным введением в МПД паклитаксела. Состояние репродуктивной системы оценивали по показателям спермограммы через 2 и 3 мес., что соответствует воздействию на быстро обновляющиеся и резервные сперматогонии. Препарат «Мужской Дизнай» вводили через 1 мес. после введения паклитаксела в течение 2 недель внутривенно в дозе 110 мг/кг.

Результаты. Установлено, что через 2 мес. после сочетанного введения паклитаксела и корректора выявляется увеличение общего количества мужских половых клеток, приходящихся на придаток, повышенное число подвижных спермиев по сравнению с таковым на фоне введения одного цитостатического препарата. Через 3 мес. после начала эксперимента в группе животных комбинированной терапии фертилизующие свойства зрелых половых клеток (количество подвижных форм и максимальная продолжительность их движения) оказались выше, чем при введении одного паклитаксела. Полученные данные свидетельствуют о корректорных свойствах препарата «Мужской Дизнай» на пролиферативный пул сперматогенеза при цитостатическом воздействии.

Заключение. Препарат «Мужской Дизнай» является эффективным средством профилактики отдаленных последствий цитостатической химиотерапии на мужскую воспроизводящую функцию.

*А.А. Борунова, Г.З. Чкадуа, Т.Н. Заботина,
Т.Н. Михайлова, К.А. Барышников,
Л.В. Демидов, З.Г. Кадагидзе*

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИИ Т-ЛИМФОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ДИССЕМИНИРОВАННОЙ МЕЛАНОМой КОЖИ ПРИ ВАКЦИНОТЕРАПИИ

РОНЦ им.Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Задача исследования. Оценить прогностическую значимость изменений структуры популяции Т-лимфоцитов периферической крови онкологических больных при вакцинотерапии зрелыми дендритными клетками, нагруженными опухолевым лизатом.

Материалы и методы. В исследование были включены больные диссеминированной меланомой кожи (n=15), получившие вакцинотерапию в терапевтическом режиме (по 6 вакцинаций) и группа доноров (n=11). У 6 больных (40 %) на фоне лечения была отмечена стабилизация процесса (1 группа), у остальных 9 больных (60 %) – в процессе вакцинотерапии наблюдалось прогрессирование основного заболевания (2 группа). Иммунофенотип лимфоцитов периферической крови оценивали до начала лечения и в процессе вакцинотерапии в реакции иммунофлуоресценции с коммерческими МКА к CD45, CD3, CD4 и CD8 анти-

генам, конъюгированными FITC, PE, PE-Cy5 и APC, с последующим анализом на проточном цитофлуориметре FACS Calbur (BD Biosciences).

Результаты. Исследование популяции Т-лимфоцитов показало, что количество CD45⁺CD3⁺ клеток у больных 2 группы было в пределах нормы (67,6±7,1 %), а у больных 1 группы – в 1,2 раза превышало нормальные значения до начала терапии и в процессе вакцинотерапии оставалось без динамики. Анализ субпопуляций Т-лимфоцитов показал, что у больных 1 группы до начала терапии количество CD45⁺CD4⁺ клеток было в норме (38,4±6,7 %), а субпопуляция CD45⁺CD8⁺ лимфоцитов превышала нормальные показатели, составляя 39,1±6,2 %. На фоне лечения обе эти субпопуляции клеток оставались без динамики. У больных 2 группы до начала лечения количество CD45⁺CD4⁺ и CD45⁺CD8⁺ клеток было схожим (38,7±5,2 % и 42,9±5,9 % соответственно). В процессе вакцинотерапии было выявлено уменьшение субпопуляции CD45⁺CD4⁺ Т-лимфоцитов (30,6±5,1% после 6 вакцинации), а количество CD45⁺CD8⁺ клеток, напротив, увеличивалось (до 47,8±6,9 %). Соотношение основных субпопуляций Т-лимфоцитов (CD4/CD8) у больных двух групп до начала лечения был на уровне нижней границы нормы (1,0±0,5).

В процессе вакцинотерапии у больных 1 группы этот показатель оставался без динамики, а у больных 2 групп – значительно уменьшался.

Выводы. Полученные нами результаты позволяют рассматривать уменьшение субпопуляции CD45⁺CD4⁺ Т-лимфоцитов и снижение соотношения CD4/CD8 клеток как фактор неблагоприятного прогноза при вакцинотерапии.

*О.А. Бочарова, А.Ю. Барышников, В.А. Ильенко,
Р.В. Карпова, М.А. Лыженкова,
Е.В. Бочаров, И.В. Казеев*

КОРРЕКЦИЯ АДГЕЗИОННЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ПРИ ОПУХОЛЕВОМ ПРОЦЕССЕ ПЕРСПЕКТИВНА ДЛЯ РАЗРАБОТКИ НЕТОКСИЧЕСКИХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Современная онкология имеет много достижений, обогащающих наши знания о природе рака: открытие и изучение онкогенов, факторов роста (цитокинов), программированной клеточной гибели, лекарственной резистентности, факторов ангиогенеза, дефицита иммунной реактивности и др. Все это имеет огромное значение для понимания процесса опухолеобразования, но пока не получило теоретического обобщения. Мы располагаем неполными знаниями о том, каким образом опухолевая клетка координирует и связывает огромное число событий, используя «предательскую» помощь своего окружения в организме хозяина для его же уничтожения.

Нарушение дифференцировки клеток при потере контроля над пролиферативными процессами считают неотделимой чертой опухолевых клеток. Этот признак можно связать с утратой связи клеток друг с другом, в том числе с клетками иммунной системы.

Нарушение взаимной адгезивности клеток наследственно предрасположенной к новообразованию ткани может быть результатом потери или инактивации единственного аллеля гена гликопротеина – «контактина» (вероятно, из семейства кадхеринов), тканеспецифически регулирующего межклеточные взаимодействия, поддерживающего тканевую архитектуру, отвечающего за дифференцировку и клеточный гомеостаз нормальной ткани.

В нормальном онтогенезе содержание «контактина» в соответствующей ткани является максимальным при становлении взрослой функции (высокой степени дифференцированности), убывая со временем при развитии процессов старения.

Нарушение адгезии обеспечивается дефицитом сначала тканеспецифических, а затем и неспецифических (например, из семейства ICAM сверхсемейства иммуноглобулинов) факторов гомотипической адгезии.

Дефицит тканеспецифических факторов адгезии ограничивает, возможно, один из центральных механизмов тканевой противоопухолевой защиты, нарушая регуляцию процессов деления и дифференцировки. Дефицит гистонеспецифических молекул гомотипической адгезии возникает намного позже и усугубляет ослабление контактных взаимодействий клеток опухоли.

Недостаточность гистонеспецифических молекул адгезии опухолевых клеток индуцирует, во-первых, снижение экспрессии соответствующих лигандов из семейства лейкоцитарных интегринов (например, LFA-1, Mac-1) на поверхности иммунных эффекторов, а во-вторых, – усиление на мембранах опухолевых клеток экспрессии молекул адгезии к субстрату, например антигенов поздней активации VLA и цитоадгезинов из семейства интегринов. Первое приводит к недостаточности взаимодействий молекул из семейства ICAM с их лигандами, обеспечивающими прикрепление иммунных эффекторов к клеткам-мишеням, сводя к минимуму элиминацию последних макрофагами, нейтрофилами, натуральными киллерами, цитотоксическими лимфоцитами, что вносит существенный вклад в экранирование опухоли от механизмов противоопухолевого надзора.

Второе способствует формированию собственной сосудистой сети опухоли (путем индукции экспрессии, например, молекул VCAM-1), ее инвазии в окружающие ткани, прикреплению опухолевых клеток к другим органам и тканям (гетеротипической адгезии), что индуцирует усиление пролиферации и еще большее подавление апоптоза, а также по линии обратной связи – дополнительное разобщение клеток опухоли.

Так появляются метастазы, которые через новый виток адгезивных нарушений усугубляют ускользание опухоли от иммунологического надзора и контроля пролиферации, беспрепятственно «съедая» подлежащие и другие ткани, что, в конечном итоге, приводит к гибели организма.

Следовательно, дефицит тканеспецифического адгезивного фактора в самом начале процесса неоплазии, запуская каскад патологических реакций, приводит к более сложным нарушениям адгезии, которые в свою очередь являются критическими для «тоталитарного» поведения опухоли и «колониализации» ею других тканей и органов. Нарушение адгезии может играть роль ключевого механизма опухолевого процесса, поскольку обеспечивает основные свойства опухоли: потерю местного (тканевого) контроля пролиферации, анаплазию, инвазию, метастазирование и ускользание от иммунологического надзора.

Таким образом, различные молекулы на поверхности опухолевых клеток, обеспечивающие гомо- и гетеротипическую адгезию могут являться важными мишенями для воздействия лекарственных агентов. Это создает перспективу для новых способов диагностики, профилактики и лечения опухолей.

В. Боят, В.Ю. Балабаньян, Р.Н. Аляутдин **ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ** **И ВНУТРИКЛЕТОЧНОЕ НАКОПЛЕНИЕ** **НАНОЧАСТИЦ С ПАКЛИТАКСЕЛОМ**

ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва

Цель исследования. Изучение цитотоксической активности и внутриклеточного накопления наносомальной формы паклитаксела в высокорезистентных клетках JurkatWT.

Материалы и методы. Методом соосаждения получена наносомальная форма паклитаксела на основе сополимера молочной и гликолевой кислот. Цитотоксическая активность полученной формы изучена на высокорезистентной клеточной линии Jurkat WT с использованием МТТ, ЛДГ и АТФ тестов. Внутриклеточное накопление наночастиц исследовано методом флуоресцентной микроскопии.

Результаты и выводы. Экспериментальные формы паклитаксела тестировались в диапазоне концентрации от 10^{-7} до 10^{-4} . Во всех трех тестах раствор паклитаксела в диапазоне тестируемых концентраций не достигал ИК₅₀, в то время как в МТТ и ЛДГ тестах его наносомальные формы достигали ИК₅₀ при концентрациях $6,8 \times 10^{-6}$ М. В АТФ тесте наносомальная форма паклитаксела с суперпокрытием ПС-80 достигала ИК₅₀ в минимальной концентрации (1×10^{-6} М). Во всех трех тестах снижение концентрации раствора паклитаксела с 1×10^{-4} М до $6,8 \times 10^{-6}$ М приводило к снижению его цитотоксичности, а в концентрации $6,8 \times 10^{-6}$ М количество жизнеспособных клеток составляло 95 % по отношению к контролю. В концентрации $6,8 \times 10^{-6}$ М наносомальные формы паклитаксела проявили выраженный цитотоксический эффект в сравнении с обычным паклитакселем – в МТТ и ЛДГ тестах жизнеспособность сохранили около 30–40 % клеток, а в АТФ тесте – 27 % клеток. Флуоресцентная микроскопия показала, что наночастицы с флуоресцентным кумарином-6 захватываются клетками Jurkat WT. После инкубации клеток с наночастицами, мечеными кумарином-6, наблюдается интенсивная флуоресценция обычных наночастиц и наночастиц, покрытых ПС-80.

Флуоресценция кумарина-6 наблюдается как вокруг ядер (красные ядра окрашены пропидии йодидом), так и в самих ядрах, что указывает на захват клетками Jurkat WT меченых наночастиц. Наибольшая флуоресценция наблюдалась вокруг ядер и в ядрах клеток, инкубированных с наночастицами, покрытыми ПС-80, в сравнении с наночастицами без ПС-80. Показано наличие цитотоксической активности наносомальных форм паклитаксела в отношении Jurkat WT, проявляющейся в низких концентрациях (10^{-6} М); установлено накопление наночастиц в опухолевых клетках.

Н.А. Брусенцов¹, Ю.А. Пирогов², В.А. Полянский³,
М.В. Гуляев², И.С. Голубева¹, А.В. Жуков³,
Н.В. Анисимов², Д.А. Тищенко², Т.Н. Брусенцова⁴,
М.П. Никитин⁴, П.И. Никитин⁴, М.В. Юрьев⁴,
А.В. Иванов¹

МР-ТОМОГРАФИЯ **И ЭЛЕКТРОННО-СЕНСОРНЫЙ КОНТРОЛЬ** **В ПРОЦЕССЕ ТЕРАГНОСТИКИ** **ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ** **С ПРИМЕНЕНИЕМ НАНОПРЕПАРАТОВ**

¹РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

²ЛМРТС МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

³НИИМ МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

⁴ИОФ РАН им. А.М. Прохорова РАН, Москва

Цель исследования. Разработка способа количественной оценки содержания цитратмагнетита в опухоли, РЭС, органах и усилении МРТ-изображений цитратмагнетитом в сочетании с магневином в процессе терагностки злокачественных опухолей.

Материалы и методы. Контроль содержания нанопрепарата, цитратмагнетита в опухоли и в РЭС проводили на электронно-сенсорном устройстве «БИО-СПЕК» ИОФ РАН им. А.М. Прохорова.

МРТ-сканирование проводили на магнитном-резонансном биоспектротомографе BIOSPEC BC 70/30 USR (Bruker) в режимах: T_1 -взвешенное ($TR/TE = 500/15$ мс), T_2 -взвешенного градиентного эха ($TR/TE = 500/15$ мс, угол поворота 15°) и T_2^* -взвешенного 3D сканирования солидных опухолей лимфолейкоза Р388 на самках мышей DBA.

Результаты. Минимальная температура $+44^\circ\text{C}$, необходимая при терапии глубокозалегающих опухолей, трудно достижима с применением существующих устройств, применяемых при терагностике. Увеличивающаяся при терагностике перфузия крови через ткани опухоли ускоряет клиренс магнитоуправляемых противоопухолевых нанопрепаратов (МПН), концентрация их в опухоли уменьшается. В слабых неоднородных постоянных магнитных полях внутри опухоли и по ее краям на поверхности крупных сосудов остаются островки непрогретой до $+45 - 46^\circ\text{C}$ опухолевой ткани, содержащей выжившие клетки – источник прогрессии опухолей.

Выводы. Основная часть перечисленных проблем решается путем электронно-сенсорного контроля содержания нанопрепаратов в опухоли и в РЭС. Для повышения эффективности терагностки необходимо увеличение концентрации МПН в опухолевых тканях адекватное уменьшению градиента температуры.

Исследование поддержано Грантами РФФИ: (07-04-92001-ННС_а; 08-01-00026; 10-01-00015; 09-04-12284, 10-02-01182).

В.М. Бухман¹, С.Э. Гельперина³, Е.Б. Исакова²,
О.О. Максименко³, Д.А. Бодягин²

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ЭФФЕКТА НАНОСОМАЛЬНЫХ ФОРМ ДОКСОРУБИЦИНА НА МОДЕЛЯХ ЛИМФО- И ЭРИТРОБЛАСТНОГО ЛЕЙКОЗОВ У МЫШЕЙ

¹РОИЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

²НИИНА им. Г.Ф. Гаузе РАМН, Москва

³ООО «НПК «Наносистема», Москва

Цель исследования. Сравнить эффективность различных наносомальных форм доксорубина (Докс) на моделях развившихся лимфо- и эритроblastного лейкозов у мышей.

Материалы и методы. Полибутилцианоакрилатные наночастицы (Докс-ПБЦА) получали методом анионной полимеризации бутилцианоакрилата в присутствии Докс. Полилактидные наночастицы (Докс-ПЛА) получали методом эмульгирования под давлением. Эритроblastный лейкоз Раушера (ЭЛР) индуцировали внутривенным введением вирус-содержащей плазмы в разведении 1 : 50 по 0,2 мл самкам мышей-гибридов (C57Bl/6 × DBA/2)F1 в день 0. Т-клеточный лимфолейкоз Р388 (Р388) поддерживали в асцитной форме серийными внутрибрюшинными пассажами в сингенных условиях на мышках родительской линии DBA/2. В день 0 прививали самкам мышей-гибридов (C57Bl/6 × DBA/2)F1 по 10^5 асцитных опухолевых клеток (33 генерация) под кожу правого бока. Препараты вводили внутривенно однократно в

день 13 в дозах 2,5, 5 и 10 мг/кг массы тела. Субстанцию Докс использовали как положительный контроль.

Результаты. Введение всех наносомальных форм оказывало выраженный дозозависимый противоопухолевый эффект в отношении развившегося ЭЛР, выражавшийся в рассасывании лейкозной ткани, то есть в снижении массы основных пораженных лейкозным процессом органов – печени и селезенки.

Наибольшую активность проявили формы Докс-ПЛА. Таким образом, ЭЛР в развившейся стадии является адекватной моделью для изучения активности средств пассивной доставки лекарств, к которым относятся Докс-НЧ.

Напротив, введение наносомальных форм Докс мышам с развившимся Р388 не влияло ни на рост подкожной лимфомы в месте инокуляции опухолевых клеток, ни на развитие гепатоспленомегалии, ни на выживаемость мышей.

Выводы. Наносомальные формы Докс на основе биodeградируемых полилактидных наночастиц проявили высокую противоопухолевую активность в отношении развившегося эритроblastного лейкоза Раушера. Развившийся лимфоblastный лейкоз Р388, по-видимому, не является адекватной моделью для изучения наносомальных форм Докс.

П.М. Бычковский¹, А.А. Кладиев², С.Ю. Щеголев³,
В.А. Богатырев³, Т.Л. Юркинович¹, Ф.Н. Капуцкий¹,
С.А. Беляев¹, С.О. Соломевич¹, С.А. Красный⁴,
Ю.П. Истомин⁴, Е.Н. Александрова⁴

ПОЛУЧЕНИЕ НАНООНКОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ КОЛЛОИДНОГО ЗОЛОТА

¹Учреждение БГУ «НИИ физико-химических проблем», Минск

²ООО «Биотехнологическая компания ТНК», Москва

³Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

⁴ГУ «РНЦ ОМР им. Н.Н. Александрова», Минск

Задачи исследования. Для увеличения терапевтического эффекта цитостатических препаратов необходимо разработать методы их целенаправленной доставки в пораженный орган. Перспективным представляется доставка лекарственного вещества с помощью биологически совместимых наночастиц золота, которая поможет решить следующие задачи: лекарства могут быть защищены от деструкции во время их переноса к месту назначения, наночастицы могут активно или пассивно накапливаться в органе-мишени и высвобождать переносимые лекарства контролируемо как по дозе, так и по времени.

Поэтому цель данной работы – получение лекарственных форм противоопухолевых препаратов проспидина и цисплатина, иммобилизованных на коллоидном золоте (КЗ), предназначенных для локальной химиотерапии злокачественных опухолей.

Материалы и методы. В качестве исходного материала использовали водные растворы КЗ со средним диаметром частиц 25 нм, стабилизированные полиэтиленгликолем и фармакопейные субстанции цис-диаминдихлорплатина (II) производства ОАО «Красноярский завод цветных металлов» (г. Красноярск, Россия) и проспидин хлорид производства Учреждения Белорусского государственного университета «НИИ физико-химических проблем БГУ» соответственно. Процесс иммобилизации проспидина и цисплатина КЗ был изучен методами высокоэффективной жидкостной хроматографии, электронной микроскопии, центрифугирования, а также химическими методами анализа.

Результаты и выводы. Изучена иммобилизация цисплатина и проспидина на КЗ для концентраций, соответствующих их терапевтической дозе. Получены новые лекарственные формы наноонкологических препаратов на основе КЗ с цисплатином и проспидином. Показано *in vitro*, что подавление клеток HeLa иммобилизованным КЗ проспидином соответствует подавлению клеток HeLa раствором проспидина, при существенном уменьшении концентрации проспидина. Для иммобилизованного КЗ цисплатина подавление клеток HeLa также значительно, но меньше, чем для его водных растворов. Показано проявление цитостатической активности КЗ.

П.М. Бычковский¹, Т.Л. Юркович¹,
Ф.Н. Капуцкий¹, С.А. Беляев¹, Д.А. Адамчик¹,
Э.А. Жаврид², А.В. Ваккер², Ю.Г. Шанько³,
А.Л. Танин³, Е.А. Короткевич³

ЦИСПЛАЦЕЛ – НОВЫЙ ОТЕЧЕСТВЕННЫЙ ЛЕКАРСТВЕННЫЙ ПРЕПАРАТ ДЛЯ ЛОКАЛЬНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВЫ И ШЕИ

¹Учреждение БГУ «НИИ физико-химических проблем», Минск

²ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова», Минск

³ГУ «РНПЦ неврологии и нейрохирургии» МЗ РБ, Минск

Введение. Одним из наиболее перспективных и безопасных для организма методов лечения онкологических заболеваний является локальная химиотерапия с использованием цитостатических препаратов, иммобилизованных на биodeградируемых носителях.

Задачи исследования. Создание полимер-лекарственного комплекса цисплатина (ЦП) на основе окисленной целлюлозы – препарата Цисплацел, предназначенного для локальной химиотерапии злокачественных новообразований головного мозга и опухолей в области головы и шеи и проведение клинических испытаний препарата.

Результаты и выводы. Разработан способ получения лекарственного препарата Цисплацел (Патент РБ №6420), заключающийся в иммобилизации ЦП окисленной целлюлозой посредством ионообменного взаимодействия из водного раствора цитостатика с концентрацией, не превышающей 8×10^{-3} моль/л. Установлено, что релиз ЦП из фазы полимера в физиологический раствор протекает в две стадии. При этом на начальной стадии вблизи пораженного органа создается ударная доза цитостатика, а на протяжении конечной стадии происходит постепенная «подпитка» пораженного органа небольшим количеством лекарственного вещества, что создает эффект пролонгированного действия. В условиях *in vitro* и *in vivo* было показано, что полимер-лекарственная форма цисплатина не обладает выраженным нейротоксическим действием на интактную ткань головного мозга как в месте имплантации, так и на отдалении и полностью сохраняет цитостатические свойства нативного цисплатина. Клинические испытания препарата Цисплацел, проведенные в ГУ «РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова» МЗ РБ на 65 пациентах с различными новообразованиями головы и шеи свидетельствуют о том, что в результате местного применения Цисплацела после радикальных удалений первичных и рецидивных опухолей различной локализации на голове и шеи приводит к полному выздоровлению 51 % пациентов и сокращению количества рецидивов в среднем на 25–40 % по сравнению с контрольной группой больных, что свиде-

тельствует об эффективности местного применения препарата Цисплацел. В результате проведенных клинических испытаний в ГУ «РНПЦ неврологии нейрохирургии» МЗ РБ было установлено, что эффективность препарата Цисплацел в качестве противоопухолевого средства послеоперационной локальной химиотерапии супратенториальных глиом головного мозга (Grade III–IV) в сочетании с лучевой терапией (95 пациентов) оценивается как положительная: наблюдалось достоверное увеличение продолжительности безрецидивного периода с $31,9 \pm 2,8$ недель (контрольная группа) до $50,8 \pm 3,2$ недель (опытная группа) ($p < 0,05$) и продолжительности жизни больных более, чем в 2 раза (с $211 \pm 21,4$ до $427,5 \pm 28,4$ дня). Кумулятивная выживаемость, рассчитанная по таблицам продолжительности жизни (Life table method) в основной группе, была выше, чем в контрольной, что также свидетельствует о большей эффективности полученного препарата, в сравнении с нативным цисплатином.

Внедрение. Лекарственный препарат Цисплацел зарегистрирован на территории Республики Беларусь и рекомендован к применению в медицинской практике в качестве лекарственного средства для имплантации в ложе удаленной супратенториальной нейроэпителиальной опухоли головного мозга, а также в мягкие ткани и полости в месте удаленной опухоли органов головы и шеи с целью обеспечения локального цитостатического противоопухолевого воздействия. На УНП РУП «Унитехпром БГУ» создано его производство и осуществлен промышленный выпуск. Препарат Цисплацел поступает в учреждения здравоохранения Республики Беларусь.

Н.Д. Веряскина¹, Г.У. Олжатаева², Э.Н. Зазнобко¹,
Л.М. Иванова¹, Е.Н. Аверкина³, В.А. Лубенников³,
А.Ф. Лазарев³, С.М. Адекенов²

АРГЛАБИН ПРИ ЛЕЧЕНИИ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

¹ГУЗ Алтайский краевой онкологический диспансер, Барнаул

²Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия», Республика Казахстан, Караганда

³Алтайский филиал РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Барнаул

Рак шейки матки (РШМ) – наиболее частая злокачественная опухоль женских половых органов. Основными методами лечения рака шейки матки являются хирургический и лучевой, а также комбинация последнего с химиопрепаратами.

В ГУЗ Алтайский краевой онкологический диспансер в качестве сенсibilизатора использовали оригинальный растительный препарат Арглабин в комбинации с лучевой терапией. В исследовании наблюдались 2 группы пациенток по 30 больных; 1-й группе проводился курс сочетанной лучевой терапии (СЛТ) в комбинации с Арглабином, во 2-й группе (сравнения) – только СЛТ. Сочетанная лучевая терапия проводилась в два этапа:

1-й этап – дистанционная гамма терапия на аппарате АГАТ-Р РОД – 2 Гр, СОД – 14–16 Гр в зависимости от стадии;

2-й этап – дистанционная гамма терапия РОД – 2 Гр до СОД – 44–46 Гр и параллельно внутриволостная гамма терапия на аппарате АГАТ-ВУ РОД – 5–7 Гр до СОД – 49–50 Гр.

Арглабин вводился внутривенно одномоментно 10 мг/кг веса тела за 20 мин до сеанса лучевой терапии ежедневно. Проведенное исследование показало хорошую переносимость пациентами лекарственного препарата.

Арглабин не усилил повреждающего действия лучевой терапии на нормальные ткани, увеличил частоту регрессии опухоли и частоту лечебного патоморфоза. Частичная регрессия достигнута у 21 пациентки (70 %), полная регрессия – у 2 пациенток (6,7 %), стабилизация процесса – у 7 пациенток (23,3 %). В контрольной группе частичный регресс достигнут у 16 пациенток (53,3 %), стабилизация – у 11 пациенток (36,6 %) и у 1 пациентки (3,3 %) отмечено прогрессирование процесса. Лечебный патоморфоз зафиксирован в основной группе у 18 пациенток (60 %), в группе сравнения – у 9 пациенток (30 %).

Таким образом, результаты проведенных исследований позволяют рекомендовать Арглабин в качестве радиомодификатора при сочетанной лучевой терапии РШМ.

И.Г. Гатауллин, Р.К. Шакиров, А.А. Валиев

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ В ПЕЧЕНЬ У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

ГОУ ДПО «Казанская Государственная медицинская академия Росздрава, Казань

Актуальность темы. До 50 % больных колоректальным раком при первичном обращении уже имеют метастазы в печени. Современные концепции в лечении больных колоректальным раком с метастазами в печень должны основываться на использовании молекулярно-генетических данных о развитии злокачественных опухолей у человека.

Цель исследования. Оптимизация методов прогнозирования метастазов колоректального рака в печени.

Материалы и методы. Работа основана на анализе результатов клинического обследования и лечения 96 больных колоректальным раком. Для проведения анализа пациенты были разделены на две группы:

1-я группа больных после операции на кишке погибших от прогрессирования процесса в виде метастатического поражения печени (23 больных – 24 %).

2-я группа больных, проживших 5 и более лет после операции на кишке (73 больных – 76 %). Все больные подвергнуты оперативному вмешательству в зависимости от локализации опухоли в кишке и ее распространенности.

Для выявления влияния клинко-морфологических и иммуно-гистохимических параметров первичной опухоли на метастазирование в печень у больных колоректальным раком был проведен дискриминантный анализ обеих групп больных.

В качестве клинко-морфологических и иммуно-гистохимических критериев, которые мы рассматривали с прогностической точки зрения, были использованы следующие данные: возраст больного, локализация опухоли, макроскопическая форма новообразования, морфологический вариант и степень ее дифференцировки, глубина поражения кишечной стенки, наличие или отсутствие метастазов в регионарные лимфатические узлы, стадия заболевания и экспрессия иммуногистохимических маркеров (тканевой раково-эмбриональный антиген (РЭА), мутантный белок гена p53, маркер клеточной пролиферации Ki-67, фактор неоангиогенеза CD31, цитокератин №7, онкобелок HER-2/neu, ген апоптоза Bcl-2).

Результаты. По нашим данным сила корреляции исследуемых прогностических параметров в зависимости от коэффициента корреляции (г) распределилась следующим образом. У 11 параметров, в прогностическом значении, выявлена достоверная корреляция с метастазированием в печень, это – p53 (г – 0,810), РЭА (г – 0,706), показатель N (г – 0,694), вид операции на кишке (г – 0,676), локализация опухоли в кишке (г –

0,667), стадия заболевания (г – 0,0630), Ki-67 (г – 0,558), HER-2/neu (г – 0,493), цитокератин 7 (г – 0,460), CD31 (г – 0,422), показатель T (г – 0,299). Результатом проведения дискриминантного анализа является создание математической модели индивидуального прогноза метастазирования в печень для больных колоректальным раком, которая с вероятностью 86,4 % позволяет определить исход заболевания.

Заключение. Таким образом, комплексный подход к изучению прогностических факторов, позволит построить эффективную математическую модель индивидуального прогноза, а использование данной модели в клинической практике поможет правильно выстроить лечебную тактику и выбрать наиболее адекватный режим диспансеризации для каждого больного.

И.Г. Гатауллин, А.И. Хасанова, Г.Н. Хусаинова,

С.В. Петров

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ФЕНОТИПИРОВАНИЕ ПЕРВИЧНОГО И МЕТАСТАТИЧЕСКОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ДЛЯ ВЫБОРА ОПТИМАЛЬНОЙ СХЕМЫ ЛЕЧЕНИЯ

ГОУ ДПО Казанская государственная медицинская академия Росздрава, Казань

ГОУ ВПО Казанский государственный университет

Росздрава, Казань

Республиканский клинический онкологический диспансер МЗ РТ, Казань

Актуальность. Выбор тактики адъювантного и лечебного режимов лечения рака молочной железы во многом определяется отсутствием или наличием в опухоли гормональных рецепторов и экспрессии гена HER-2-neu.

Цель исследования. Проведение сравнительного анализа фенотипов первичной и вторичной (метастатической опухоли) молочной железы.

Материалы и методы. Проанализированы ретроспективно и проспективно 409 больных раком молочной железы стадий T₁₋₄ N₀₋₃ M₀₋₁ в возрасте 20–80 лет, получавших комбинированное лечение, основанное на анализе результатов клинических, лабораторных методов диагностики, иммуногистохимического исследования гормонального статуса и тканевых маркеров первичной опухоли. Иммуногистохимические исследования проводили с помощью набора моноклональных антител к эстрогеновым и прогестероновым рецепторам, белку онкогена HER-2/neu.

Результаты. Больным проводили оперативное лечение в зависимости от локализации первичной опухоли и локо-регионарного распространения. При определении гормонального статуса и онкомаркера HER-2-neu в исследовании преобладали пациентки с эстроген-рецептор негативными опухолями – 266 человек (45 %), прогестерон-рецептор негативными опухолями – 309 человек (75,3 %) и пациентки с опухолями негативными по статусу HER-2 neu – 343 человека (83,9 %). Из 409 пациенток у 27 больных с метастатическим раком молочной железы проведено сравнительное фенотипирование первичной и вторичной (метастатической) опухолей на гормональные рецепторы и статус HER-2/neu. У всех пациентов имелись отдаленные метастазы: у 2 пациентов метастазы в головной мозг, у 10 пациентов очаги в легких, у 9 пациентов метастазы в печень, у 5 пациентов кожная диссеминация, у 1 больной метастазы в яичник. Все метастазы морфологически и фенотипически верифицированы. Наши исследования показали, что только в 42 % случаях отмечалось полное совпадение фенотипа первичной и метастатической опухоли.

В остальных 58 % случаев наблюдалось расхождение иммунофенотипов первичной и вторичной опухолей; из них в 26 % фенотип первичной опухоли не совпадал с вторичной по экспрессии гена HER-2neu. В 29,6 % отмечалось несоответствие по экспрессии эстрогеновых рецепторов, и в 25,8 % несовпадение по рецепторам прогестерона.

Заключение. Таким образом, если исходить из предпосылок, что в 58% случаев первичная и вторичная опухоли имеют различный фенотип по основным характеристикам опухолевого роста, то выбор оптимальной схемы лечения должен основываться на результатах иммуно-гистохимического исследования метастатической опухоли. Данный подход может принципиально изменить алгоритм и последовательность проводимого обследования и лечения. При проведении более прицельного, индивидуального лечения можно говорить о «таргетном» подходе в онкологии, что впоследствии, возможно, приведет к увеличению общей и безрецидивной выживаемости.

*С.К. Гойибова, Н.А. Агзамова, А.А. Юсупова,
Т.М. Фузаилова, З.М. Еникеева*

ИЗУЧЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ ВВЕДЕНИЯ НОВОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА ДЭКОВИНА

Республиканский онкологический центр МЗ Республики Узбекистан, Ташкент

Нами проведен первый этап изучения противоопухолевой активности Дэковина – менее токсичного и водорастворимого аналога Дэкоцина, разработанного в РОНЦ МЗ РУз, при 10-кратном его введении в ранние сроки после инокуляции опухоли. Показано, что из 5 использованных опухолей на 3 Дэковин обладает более значительной активностью, чем Дэкоцин.

Цель исследования. Изучение противоопухолевой активности препарата Дэковин при воздействии препарата на развившуюся опухоль, а также изучение возможностей препарата для лечения меньшим количеством введений.

Материалы и методы. Исследования проводены на перевиваемом мышинном штамме аденокарциномы толстого кишечника АКАТОЛ (мышы линии BALB/c). Штаммы опухолей перевивали согласно инструкции (Е.М. Трещалина и соавт., 2005). При оценке противоопухолевой активности изучаемых соединений определялся процент торможения роста опухоли, также были определены потеря массы тела, влияние на селезенку. Опыт прекращали не ранее, чем через 7 дней после последнего введения препарата животным. Контролем служили группы животных с введением им физиологического раствора.

Результаты. При изучении возможностей применения меньшего количества введений препарата, а именно при четырехкратном введении через 2 дня после инокуляции опухоли Дэковин в дозе 75 мг/кг (300 мг/кг на курс) тормозил рост опухоли на 82,53 %, в дозе 50 мг/кг (200 мг/кг на курс) – на 91,19 %, а в дозе 30 мг/кг (120 мг/кг на курс) – на 57,27 %.

При десятикратном введении Дэковин в дозе 50 мг/кг (500 мг/кг на курс; с 10 дня после перевивки опухоли АКАТОЛ) был на 26,7 % более эффективен (ТРО = 98,18 %), чем при введении на 2 день после перевивки (71,48 %).

При однократном введении Дэковина в дозах 200, 150 и 120 мг/кг (с 9 дня после перевивки опухоли)

ТРО составило соответственно 92,37 %, 96,29 % и 68,5%, что не было дозозависимым в отношении двух первых доз, поскольку снижение дозы с 200 до 150 мг/кг оказалось не симбатно увеличению активности.

Выводы. Дэковин дает эффект большей активности при меньшем количестве введений, а также выраженный противоопухолевый эффект при лечении животных в поздние периоды после перевивки опухолей.

С.В. Головачев

ВОЗМОЖНОСТИ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ СИНХРОННЫМИ ПЕРВИЧНО-МНОЖЕСТВЕННЫМИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ

Ярославская государственная медицинская академия, Ярославль

Задачи исследования. Общеизвестно, что риск развития вторых и последующих опухолей у пациентов с уже выявленными опухолями примерно в 1,3 раза выше, чем у лиц, у которых ранее не было новообразований. Причинами повышения частоты первично-множественных новообразований принято считать, с одной стороны, совершенствование методов диагностики, а с другой – появление более эффективных методов лечения, что позволяет больному «дожить» до развития второй опухоли. При этом лечение метасинхронных злокачественных опухолей не отличается от методов лечения солитарных новообразований тех же локализаций и стадий опухолевого процесса. Было сделано предположение о наличии определенных прогностических факторов эффективности неoadьювантной химиотерапии в группе больных синхронными первично-множественными злокачественными новообразованиями.

Материалы и методы. Проанализированы результаты лечения 162 больных синхронными первично-множественными злокачественными новообразованиями на основании данных 5-летней выживаемости. В изучаемую группу вошли пациенты с морфологически подтвержденным диагнозом двух и более злокачественных новообразований, выявленных с интервалом менее 6 месяцев. Клинические (объем поражения, общее состояние больных) и морфологические данные (цитология, гистология, ИГХ) оценивались с учетом прогностических факторов (объем проведенного лечения, показатели выживаемости).

Результаты. Большинству (83 больных) проведено радикальное хирургическое лечение всех выявленных локализаций опухолей, 42 – радикальное комбинированное (сочетание хирургического и лучевого методов). Проведение неoadьювантной химиотерапии в каждой из этих групп оказалось возможным в 24 % случаев (20 и 10 больных соответственно). Анализ применения неoadьювантной полихимиотерапии определенно указывает на более высокую по сравнению с другими схемами эффективность назначения платиносодержащих препаратов.

Выводы. Проведение неoadьювантной полихимиотерапии больным синхронными первично-множественными злокачественными новообразованиями рационально при чувствительности всех установленных опухолей к используемым химиопрепаратам, позволяет расширить показания для проведения органосохранного лечения без значительного влияния на результаты общей безрецидивной 5-летней выживаемости.

И.С. Голубева¹, Н.В. Андропова¹, А.Л. Николаев²,
Н.П. Яворская¹, Г.К. Герасимова¹, Е.М. Трещалина¹

**ОЦЕНКА ЭФФЕКТА
СОНОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ
НА МОДЕЛИ МЕЛАНОМА В16
С ИНДУЦИРОВАННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ
К ДАКАРБАЗИНУ**

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва
МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Сонодинамическая терапия (СДТ) – новый подход к лечению злокачественных опухолей, сочетающий воздействие на опухоль ультразвука на фоне химиотерапии. Согласно данным литературы при СДТ можно преодолеть некоторые виды индуцированной лекарственной устойчивости опухолей.

Ранее нами был создан подштамм перевиваемой опухоли мышей меланомы В16 с индуцированной устойчивостью к противоопухолевому препарату дакарбазину (В16/DC).

Задача исследования. Оценить *in vivo* эффект СДТ (дакарбазин + УЗ) на опухоль меланомы В16/DC.

Материалы и методы. В опытах использовали гибриды BDF₁ мыши-самки массой 20–24 грамма в возрасте 1,5–2 мес. Перевиваемые опухолевые штаммы меланомы В16 и меланомы В16/DC.

Клетки В16 и В16/DC перевивали внутримышечно в заднюю лапку по принятой в РОНЦ РАМН методике. На 6–7 сутки отбирали мышей с опухолями, достигшими среднего объема 0,6–0,7 см³, и формировали экспериментальные группы по 5–7 мышей в каждой: контрольная, группа получавшая только ультразвук (УЗ), группа получавшая только дакарбазин и дакарбазин + УЗ с интервалами между воздействиями 15 мин и 2 часа.

акарбазин (фирма Лахема) растворяли *ex tempore* в воде для инъекций и вводили мышам внутривентриально в дозе 300 мг/кг.

Для УЗ-воздействия использовали установку УСДТ-м с режимом 10 мин облучения с двумя параметрами частот: 0,88 МГц, интенсивность 1,0 Вт/см² и 2,64 МГц, интенсивность 2,0 Вт/см².

Оценку противоопухолевого эффекта проводили по времени удвоения размеров опухоли (τ). Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты. Дакарбазин в дозе 300 мг/кг также, как и один УЗ не действуют на рост меланомы В16/DC: коэффициент усиления противоопухолевого эффекта КУ (τ опыта/ τ контроля) = 1 и 0,5 соответственно.

При СДТ дакарбазин в дозе 300 мг/кг в сочетании с УЗ с 15 мин интервалом: наблюдалась задержка роста опухоли в 2 раза (КУ=2) в сравнении с нелеченным контролем.

При увеличении интервала между воздействиями до 2 ч эффект уменьшался (КУ = 1,5). Следует отметить, что на родительском штамме меланомы В16 эффект СДТ был более выражен.

Схема СДТ дакарбазин + УЗ через 2 ч после введения препарата приводила к задержке роста опухоли В16 в 3 раза (КУ=3) в сравнении с нелеченным контролем. Один дакарбазин и один УЗ практически не влияли на рост опухоли.

Выводы. СДТ с дакарбазином устойчивого к дакарбазину штамма В16/DC восстанавливает чувствительность опухоли к препарату.

Работа выполнена в рамках НТП «Разработка и практическое освоение в здравоохранении новых методов и средств профилактики, диагностики и лечения онкологических, инфекционных и других опасных заболеваний».

Н.В. Голубцова¹, И.Н. Михайлова¹, В.В. Новиков²,
К.А. Парсункова¹, Н.Н. Петенко¹, Е.В. Огородникова¹,
В.Н. Тазаев, К.С. Титов¹, Е.А. Черемушкин¹,
К.А. Барышников³, Н.Б. Преснякова, Г.З. Чадау¹,
Л.В. Демидов¹, А.Ю. Барышников¹

**ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ
СЫВОРОТОЧНОГО УРОВНЯ
РАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ
МОЛЕКУЛ HLA I КЛАССА
У БОЛЬНЫХ С ДИСSEМИНИРОВАННОЙ
МЕЛАНОМОЙ КОЖИ**

¹РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

²ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород

³ГУП «МНKC «Интермедбиофизхим»», Москва

Цель исследования. Изучение корреляции между содержанием сывороточного уровня растворимой формы молекул HLA I класса и белка S-100 как маркера прогрессии опухоли у больных диссемированной меланомой кожи в процессе вакцинотерапии дендритными клетками.

Материалы и методы. Материалом для исследования служили образцы сывороток крови больных диссемированной меланомой (n=55), полученные до начала вакцинотерапии аутологичными дендритными клетками и после 5 введений вакцины. В качестве контроля использовались образцы сывороток крови здоровых доноров (n=15).

Определение сывороточного уровня растворимого HLA I проводили иммуноферментным методом с использованием моноклональных антител ИКО 53 против тяжелой цепи антигенов HLA I класса и ИКО 216 (против b2-микроглобулина). Учет результатов проводился спектрофотометрически при длине волны 492 нм. В зависимости от исходного сывороточного уровня растворимого HLA I, все пациенты (n=55) были разделены на 2 группы. 1-ю группу (n=33) составили больные с повышенным начальным уровнем сывороточного содержания растворимого HLA I, а 2-я группа (n=22) состояла из пациентов с исходно пониженным сывороточным уровнем растворимой формы молекул HLA I класса.

Определение сывороточного уровня белка S-100 (S-100 A1B и S-100 BB формы) проводилось иммуноферментным методом с использованием диагностической тест-системы CanAg Diagnostics (Швеция). Учет результатов проводился спектрофотометрически при длине волны 405 нм.

Результаты и выводы. Проведенные исследования выявили, что уровень сывороточного содержания белка S-100 у всех больных (n=55) сильно варьировал. Значения сывороточного содержания исследуемого антигена колебались от 7,1 до 809,6 нг/мл. В контрольной группе здоровых доноров (n=15) значение сывороточного уровня белка S-100 составило $69,40 \pm 9,84$ нг/мл (контроль). Для унификации анализа высчитывали процент угнетения или стимуляции уровня по сравнению с контролем: (опыт-контроль) / контроль $\times 100\%$. В процессе вакцинотерапии дендритными клетками у пациентов 1-й группы (n=33) с изначально повышенным сывороточным уровнем растворимой формы молекул HLA I класса наблюдали небольшое повышение относительного содержания сывороточного уровня S-100 на $29,0\%$ (со $130,06 \pm 16,58$ до $159,18 \pm 148,43\%$), относительно нормальных значений в контрольной группе здоровых доноров ($100,0\%$). Во 2-й группе больных диссемированной меланомой кожи (n=22) с пониженным начальным содержанием сывороточного уровня растворимой формы молекул HLA I класса наблюдалось статистически достоверное ($p < 0,05$) более интенсивное повышение сывороточного уровня S-100 на $106,0\%$ (со $150,19 \pm 93,45$ до $256,62 \pm 258,59\%$).

Кроме того, была изучена корреляция между относительным содержанием сывороточного уровня растворимой формы молекул HLA I класса и длительностью периода до прогрессирования у больных диссеминированной меланомой кожи в процессе вакцинотерапии дендритными клетками. В ходе нашего исследования было выявлено, что у пациентов с исходно повышенным сывороточным уровнем растворимой формы молекул HLA I класса и длительным периодом до прогрессирования ($n=10$) в ходе лечения наблюдалось снижение относительного содержания сывороточного уровня данного антигена на 97,0 % (с $235,10 \pm 259,01$ до $138,18 \pm 62,97$ %), тогда как у больных с также повышенным начальным содержанием сывороточного уровня растворимого HLA I класса и коротким периодом до прогрессирования ($n=11$) относительное содержание уровня данного маркера в образцах сыворотки крови пациентов осталось практически без изменений (с $225,90 \pm 238,86$ до $227,91 \pm 266,82$ %). У больных с исходно пониженным сывороточным уровнем растворимой формы молекул HLA I класса и длительным периодом до прогрессирования ($n=5$) наблюдалось статистически достоверное ($p < 0,05$) относительно контроля (доноры) повышение содержания сывороточного уровня растворимой формы молекул HLA I класса на 23,0 % (с $38,40 \pm 24,97$ до $61,66 \pm 25,81$ %). В образцах сыворотки крови пациентов с пониженным начальным содержанием сывороточного уровня данного антигена и коротким периодом до прогрессирования ($n=10$) было выявлено статистически достоверное ($p < 0,05$) дальнейшее понижение сывороточного уровня растворимой формы молекул HLA I класса на 29,0 % (с $72,60 \pm 36,50$ до $43,60 \pm 17,90$ %) в процессе вакцинотерапии дендритными клетками.

Таким образом, изменение сывороточного содержания растворимых молекул HLA I класса может являться прогностически значимым.

В.Е. Гольдберг, Т.Ю. Хричкова, Н.О. Попова, В.А. Шаталова, Е.С. Бурштейн
МЕХАНИЗМЫ КОМПЕНСАЦИИ ГРАНУЛОЦИТОПОЭЗА В УСЛОВИЯХ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ЛЕЧЕНИЯ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО
 НИИ онкологии, НИИ фармакологии со РАМН, Томск

Цель исследования. Сравнительное изучение токсического влияния на гранулоцитарный росток кроветворения химиотерапевтических схем доцетаксел / цисплатин (ТР) и циклофосфамид / винкристин / карбоплатин (CVC), применяемых при лечении больных раком легкого (РЛ) и вскрытие механизмов, лежащих в основе различия их гематологических эффектов.

Материалы и методы. В ходе работы было обследовано 78 больных РЛ, из которых 33 человека получали лечение по схеме CVC и 45 – по схеме ТР. Показатели периферической крови и костного мозга исследовали стандартными гематологическими методами. Колониеобразующую способность костного мозга определяли путем клонирования клеток-предшественников грануломоноцитопоэза (КОЕ-ГМ) в полувязкой среде на основе метилцеллюлозы.

Результаты и выводы. Общее количество лейкоцитов при использовании схемы CVC достоверно снижалось на протяжении второго курса лечения и в начале третьего. Применение режима ТР приводило к прогрессирующему уменьшению ОКЛ после каждого курса химиотерапии с восстановлением к началу следующего. В то же время число палочкоядер-

ных нейтрофилов на фоне режима ТР существенно превосходило уровень такового при лечении по схеме CVC. Описанное явление возможно вследствие значительного накопления зрелых нейтрофильных гранулоцитов в костном мозге на протяжении всего периода исследования при назначении схемы ТР.

Перед началом второго курса химиотерапии с использованием обеих схем наблюдалось существенное увеличение содержания в кроветворной ткани КОЕ-ГМ. Перед третьим курсом специального лечения данный показатель оставался достоверно повышен лишь в случае применения режима ТР как по сравнению с исходным уровнем, так и с аналогичной величиной в группе больных, леченых по схеме CVC.

Подводя итог изучению системы крови у больных РЛ, леченых по двум исследуемым схемам, можно заключить, что при использовании режима ТР по сравнению со схемой CVC реактивность системы крови страдает в меньшей степени. Благодаря этому наблюдается более значительная активация центральных звеньев гранулоцитарного роста гемопоэза, что приводит к накоплению незрелых и зрелых миелокариоцитов в костном мозге, увеличению костномозгового пула зрелых нейтрофилов, а также к возрастанию числа костномозговых клеток-предшественников гемопоэза в условиях ускорения их созревания.

С.А. Гончарова, Т.А. Раевская, Т.Н. Якущенко, С.В. Блохина, Н.П. Коновалова, В.Д. Сень
АНТИЛЕЙКЕМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И РАЗВИТИЕ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ К ЦИСПЛАТИНУ (сРt) И ПЛАТИНА (IV)-НИТРОКСИЛЬНОМУ КОМПЛЕКСУ ВС118
 Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка

Цисплатин и другие препараты 2-валентной платины [Pt(II)] применяются в клинике для лечения различных опухолей, однако их максимальный эффект недостижим из-за высокой токсичности и быстрого развития резистентности. Токсичность обусловлена высокой реакционной способностью Pt(II). Одним из способов улучшения терапевтических свойств платиновых препаратов является превращение соединений Pt(II) в менее реакционноспособные комплексы 4-валентной платины [Pt(IV)] и введение в их структуру биологически активных лигандов. Эта идея реализована нами при синтезе ряда Pt(IV)-нитроксильных комплексов, которые содержат биологически активные нитроксильные радикалы. Литературные данные свидетельствуют о том, что аминоксильные комплексы Pt(IV) являются пролекарствами. В клетке они восстанавливаются в более активные аналоги Pt(II), которые и осуществляют цитотоксическое действие. Мы предположили, что, комбинируя сРt и Pt(IV)-нитроксильные комплексы, можно повысить эффективность лечения.

В настоящей работе на лейкемии Р388 была изучена эффективность комбинированного применения сРt и наиболее активного из синтезированных нами ранее Pt(IV)-нитроксильных комплексов – ВС118 [ε-аммин-d-(4-амино-2,2,6,6-тетраметил-пиперидин-1-оксил)-a,f-бис(ацета-то)-b,c-дихлороплатина (IV)].

Исследовано развитие устойчивости опухоли к такой терапии (штамм Р388/сРt+ВС118), а также к монотерапии цисплатином (Р388/сРt) и комплексом ВС118 (Р388/ВС118). Исследована также чувствительность полученных резистентных штаммов к известным противоопухолевым препаратам.

Показано, что комбинированное лечение сРт и комплексом ВС118, применяемыми в низких дозах (составляющих лишь 1/10 от их LD₅₀), приводило к синергическому увеличению эффективности (излечение 100% животных). При этом монотерапия каждым входящим в комбинацию препаратом, применяемым в тех же дозах и режимах, давала умеренную эффективность, и выживших животных при этом не было. Синергического увеличения токсичности при такой комбинированной терапии не наблюдалось. Результатом применения низких доз препаратов может быть снижение известных побочных эффектов, характерных для сРт и его аналогов. Скорость развития резистентности снижались в ряду: Р388/сРт+ВС118, Р388/сРт, Р388/ВС118. Штаммы Р388/сРт+ВС118 и Р388/ВС118 были высокочувствительны к доксорубину, этопозиду и циклофосфану. Представляется целесообразным дальнейшее исследование комбинации сРт и ВС118.

Е.В. Горанская, А.М. Шубина, М.А. Каплан, С.Д. Фомин, В.Н. Капинус, М.В. Таубова

ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЙ ЛИЗИС И СИСТЕМНАЯ ВНУТРИВЕННАЯ ФДТ В ТЕРАПИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Отдел лазерной и фотодинамической терапии ФГБУ МРНЦ МЗ РФ, Обнинск

Заболеваемость раком молочной железы растет. Рак молочной железы занимает 1 место в структуре онкологической заболеваемости в России с 1985г., а к концу 2010г. в мире прогнозируется рост числа заболевших до 1,45 млн.

Задача исследования. Разработка и изучение эффективности системной фотодинамической терапии (ФДТ) и электрохимического лизиса (ЭХЛ) в комплексном лечении рака молочной железы.

Материалы и методы. Исследование проведено 28 пациенткам с различными стадиями рака молочной железы (I–III). При морфологическом исследовании в 75 % случаев выявлен протоковый рак, в остальных – дольковый, у одной пациентки – медуллярный рак. На первом этапе лечения ЭХЛ проводилось однократно всем 28 пациенткам на аппарате «ECU-300» (Soring), при параметрах: сила тока 50–80 мА, время – 25–40 мин, заряд – 2100–3200 Кл, число электродов от 4 до 10. Системную внутривенную ФДТ проводили по следующей методике: внутривенно капельно пациенту вводился «Фотолон» в дозе 1–1,5 мг/кг. Одновременно с введением фотосенсибилизатора проводилось лазерное облучение крови больного на аппарате «Латус-0,4» (длина волны 660±2 нм), параметры облучения: мощность 20 мВт, время облучения 50 минут. Последующие сеансы системной ФДТ проводились всем пациенткам 1 раз в месяц на фоне традиционного лечения согласно рекомендациям ESMO, общее количество сеансов (1–7) зависело от сроков наблюдения.

Результаты и выводы. Основным методом оценки лечения был морфологический – операционный материал, который был получен после радикальных резекций и мастэктомий, проведенных у 24 из 28 пациенток.

При исследовании операционного материала определялся лечебный патоморфоз: 3 степень – в 59 %, 2 степень – в 29 %, 1 степень – в 12 %. В окружающих опухоль тканях наблюдались некротические изменения с повреждением окружающих сосудов.

У 4 пациенток, которым не проводилось хирургическое лечение, эффективность лечения определялась по данным трепанобиопсии.

У 2 из этих 4 пациенток через год после лечения наблюдался местный рецидив. Сроки наблюдения за пациентами составили от 2 мес. до 5 лет.

За время наблюдения ни у одной из 28 наблюдаемых пациенток отдаленных метастазов не выявлено. Методы системной ФДТ и электрохимического лизиса могут быть использованы в комплексном лечении больных раком молочной железы, для повышения эффективности терапии и улучшения качества жизни.

И.Н. Григорьева, Е.В. Степанова, А.Ю. Барышников

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ВАСКУЛОГЕННОЙ МИМИКРИИ ДЛЯ БОЛЬНЫХ МЕЛАНОМой КОЖИ

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Введение. Васкулогенная мимикрия (ВМ) является дополнительным компонентом васкуляризации меланомы кожи человека.

Она представляет собой процесс формирования опухолевыми клетками без участия эндотелиальных клеток (ЭК) и фибробластов васкулярных каналов, содержащих форменные элементы крови и участвующих в кровоснабжении опухоли. Определение *in vivo* в опухолевой ткани меланомы кожи структур ВМ основано на окрашивании базальной мембраны реактивом Шиффа (PAS).

Цель исследования. Определение сосудистой плотности меланомы кожи, структур ВМ, PAS-положительных структур в ткани меланомы кожи, статистический анализ корреляции полученных данных и прогноза заболевания.

Материалы и методы. Исследование *in vivo* ВМ и сосудистой плотности меланомы кожи было проведено с помощью окрашивания реактивом Шиффа и метода комбинированного иммуногистохимического CD31/CD34/PAS-окрашивания на парафиновых блоках опухолей 36 больных.

Исследование прогностической значимости 7 типов PAS-положительных структур, сосудистой плотности опухоли в зоне максимальной плотности и в зоне ВМ было произведено с помощью программы SPSS, версия 17.0 для Windows, кривые безрецидивной выживаемости строили с использованием метода Каплана-Мейера.

Результаты. В ткани меланомы кожи выявлены 7 типов PAS-положительных каналов: прямые каналы (58,3 %), параллельные каналы (38,9 %), параллельные с пересечением каналы (13,9 %), арки (80,6 %), арки с ветвлением (72,2 %), петли (55,6 %), сети (25 %). В большинстве случаев наблюдалось сочетание нескольких типов PAS-положительных структур в ткани одной опухоли.

Показано, что для большинства типов PAS-положительных структур характерно отсутствие окрашивания антителами ЭК (CD31 и CD34). В результате комбинированного CD34/CD31/PAS-окрашивания 36 случаев меланомы кожи было определено, что для 77,8 % опухолей характерны структуры ВМ (CD31-/CD34-/PAS+-положительные каналы), а 22,2 % опухолей не содержат структур ВМ.

Статистический анализ корреляции PAS-положительных структур с прогнозом заболевания методом Каплана-Мейера показал, что наличие в ткани меланомы кожи параллельных с пересечением каналов ухудшает безрецидивную выживаемость.

Медиана времени до прогрессирования в случае обнаружения в опухолевой ткани параллельных с пересечением каналов составляет 1 мес., в случае отсутствия таких PAS-положительных структур медиана времени до прогрессирования составила 8±2,1 мес. (p=0,057).

Заключение. Актуальным является проведение дальнейших исследований для оценки прогностической значимости васкулогенной мимикрии.

А.М. Дейчман

ЛЕКАРСТВЕННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН; Москва

e-mail: amdeich@rambler.ru

Задачи исследования. Лекарственная устойчивость (включая перекрестную) возникает при применении противоопухолевых/-вирусных/-микробных и препаратов других категорий (как в случае NRTIs/NNRTIs-ингибиторов RT-фермента, применяемых одновременно в онкологии и при ВИЧ-иммунодефицитах) и серьезно осложняет процессы лечения в до- и пост-операционные и реабилитационный периоды (включая схемы химической терапии без операций и биотерапевтическое воздействие). Этот процесс (сразу или за 1–3 года после начала терапии) может развиваться, вероятно, по одному сценарию независимо от природы препаратов (низкомолекулярные, высокомолекулярные, гетероциклические, белковые соединения, др.), схем и режимов их введения. Такая устойчивость связана с мутациями в кодируемых ядром/митохондриями белках-мишенях клеток эукариот (но и вирусов, одноклеточных тоже). Среди них: ферменты – ДНК/РНК-полимеразы, протеазы, нуклеазы, др.; транспортирующие белки; анти-тела, T-/B-клеточные рецепторы; субъединицы энергетически важных белков; экспрессируемые белки генов/онкогенов (включая факторы транскрипции); белки мембран митохондрий; др. Мутациям подвержены и гены вспомогательных РНК (тРНК, рРНК, малых РНК, др.) и нетранскрибируемые регуляторные области геномов клетки (повторяющиеся / ретропозонирующие последовательности, интроны).

Результаты и выводы. Генетически обусловленная устойчивость, как и связанные с ней вышеназванные мутации, могут быть конкурентно опосредованы одним и тем же гипотетическим механизмом вариабельной поспитопной обратной трансляции отдельного эпитопа (вПОТ-механизм; см. <http://amdeich-var-reverse-translation.ru>). При этом белковый эпипептид в 5–10 аминокислот «ретранслируется» в свой нуклеиновый эквивалент (НЭ). Место действия – внутренние мембраны митохондрий (у прокариот скорее цитоплазматическая мембрана) с неотделимыми жестким лизисом фракциями тРНК. НЭ встраивается и переносится внутри транспозонподобной последовательности в специальные участки генома клеток (вирусов) эукариот (повторы/интроны/экзоны; редактируемые РНК), имеющих специфическую генетическую программу. Если белковый эпипептид модифицирован лекарством, то модифицируется и его НЭ.

Лекарственная устойчивость сопровождается митохондриальной токсичностью (нарушением репликации/репарации мтДНК, энергетических процессов, др.), апоптозом/некрозом и вышеназванными мутациями по наиболее активно взаимодействующим с препаратом (активные центры) и естественно-полиморфным сайтам геномов.

В.П. Дерягина, Н.И. Рыжова, И.С. Голубева

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ФАГОЦИТОВ И ОБРАЗОВАНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ОКСИДА АЗОТА В ОРГАНИЗМЕ МЫШЕЙ С ПЕРЕВИТЫМИ ОПУХОЛЯМИ

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Выявленное нами повышение образования производных NO в организме мышей в процессе роста

солидной карциномы Эрлиха (КЭ) и способность ингибиторов NO-синтазы (аналоги L-аргинина) замедлять развитие опухолей послужили основанием для изучения эндогенного образования NO при метастазирующей карциноме Льюиса (КЛ).

Задачи исследования. Изучить в динамике образование производных NO – нитратов (НА) и нитритов (НИ) в тканях, биологических жидкостях у мышей с КЛ, а также продуцирование активных форм кислорода (АФК) нейтрофилами крови и перитонеальными макрофагами при росте КЛ и на поздних стадиях развития КЭ.

Материалы и методы. Исследования проведены на 120 мышках F₁ и C₅₇BL, массой 22–24 г разведения питомника «Столбовая». Мышей разделили на 12 групп, 4 из которых служили контролем. Инокуляцию опухолевых клеток КЛ или КЭ проводили подкожно, соответственно по 5×10⁶ или 10⁶ клеток на мышку.

Определяли спонтанную хемилюминесценцию (СХЛ) и при стимулировании клеток зимозаном – фагоцитзависимую хемилюминесценцию (ФЗХЛ) нейтрофилов крови и перитонеальных макрофагов на 6, 13, 20 и 27 сутки роста КЛ и на 26, 33 и 37 сутки роста КЭ. В указанные сроки методом Грисса измеряли содержание НА и НИ в биологических образцах у мышей с КЛ.

Результаты. Показано, что в суточной моче мышей с КЛ суммарное количество НИ и НА было на 22,6–70,8 % (p<0,01) меньше, чем у здоровых мышей. Опухолевая ткань содержала мало производных NO (0,2–0,3 мкг/г), их уровень практически не зависел от стадии процесса.

Содержание НИ в ткани легких, пораженных метастазами, было на уровне опухолевой ткани, что в 3–5 раз меньше, чем было обнаружено в легких здоровых мышей.

Выявлено значимое – на 36,8–87 % (при КЛ) и 44,7 % (при КЭ) подавление СХЛ нейтрофилов крови, отрицательно коррелирующей с массой КЛ ($r_{\text{корр}} = -0,70$). При этом ФЗХЛ нейтрофилов крови мышей с опухолями была в 1,7–9 раз (p<0,01) больше значений в контроле.

Что касается макрофагов мышей с КЛ и КЭ, то СХЛ была на уровне контроля, но ФЗХЛ в 1,7–4,5 раза (p<0,05–0,01) была выше этого показателя у здоровых мышей.

Заключение. Рост метастазирующей КЛ сопровождается подавлением эндогенного образования производных NO в организме и снижением СХЛ нейтрофилов крови при повышении способности стимулированных нейтрофилов и макрофагов генерировать АФК. Можно предположить, что применение ингибиторов NO-синтазы у мышей с КЛ будет малоэффективно, скорее опухоль будет чувствительна к экзогенному поступлению доноров NO.

В.П. Дерягина, Н.И. Рыжова, О.А. Бочарова

ДЕЙСТВИЕ LENTINUS EDODES НА ОПУХОЛЕВЫЙ РОСТ И АКТИВНОСТЬ ФАГОЦИТОВ У МЫШЕЙ С ПЕРЕВИТЫМИ И ХИМИЧЕСКИ ИНДУЦИРОВАННЫМИ ОПУХОЛЯМИ

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Результаты экспериментальных исследований показывают, что грибы *Lentinus edodes* (Шиитаке-ШТ) могут обладать противоопухолевым потенциалом, что связывают со способностью полиглюкана лентинана (Лн), входящего в состав ШТ, корректировать активность клеток противоопухолевой защиты.

Задачи исследования. В краткосрочных и хронических опытах на мышах изучить наличие ингибирующих свойств у ШТ и выявить возможную связь со способностью грибов модулировать активность фагоцитов крови и перитонеальной жидкости.

Материалы и методы. Исследования проведены на 2 моделях: I – перевивной карциноме Эрлиха – КЭ (мыши C₅₇BL и F₁, n=132) и II – индуцированном 1,2-диметилгидразином (ДМГ) канцерогенезе (мыши F₁, n=102). За 2–4 недели до перевивки или индукции опухолей и на протяжении всего опыта мышам 5 раз в неделю вводили *per os* водную суспензию грибов (BCG, Лн=4,5 %). I. 1-я группа – здоровые; 2-я – мыши получали 188 мг/кг BCG; 3-я – п/к имплантировали КЭ по 10⁶ клеток/мышь; 4 и 5-я – мышам с КЭ вводили 188 или 376 мг/кг BCG. ТРО рассчитывали по средним объемам и массе опухоли по отношению к контролю. II – мышам еженедельно в течение 30 недель подкожно вводили водный раствор ДМГ в дозе 7,2 мг/кг. Сформировали 5 групп: 1-я – здоровые мыши; 2-я – вводили ДМГ. Мыши 3, 4 и 5-й групп на фоне воздействия ДМГ получали BCG в дозе 18, 188 и 376 мг/кг соответственно. Спонтанную (СХЛ) и фагоцитзависимую хемилуминесценцию (ФЗХЛ) нейтрофилов и макрофагов определяли хемилуминесцентным методом. Статистическую обработку результатов проводили по t-критерию Стьюдента.

Результаты. Показано, что BCG в дозе 188 или 376 мг/кг в течение первых двух недель роста КЭ вызывает достоверное ТРО (50,2 и 52,5 %, p<0,05–0,01), в дальнейшем эффект убывал и не всегда подтверждался определением по массе опухолей. У мышей с КЭ, на фоне воздействия BCG происходила нормализация активности нейтрофилов крови, при этом СХЛ перитонеальных макрофагов возрастала в 5–6 раз (p<0,01), а при стимуляции зимозаном ФЗХЛ увеличивалась в 1,7–13,4 раза (p<0,01). У мышей с индуцированными ДМГ опухолями воздействие BCG сокращало их продолжительность жизни и не влияло на частоту и множественность опухолей.

Заключение. BCG *Lentinus edodes* в условиях регулярного поступления в организм достоверно до 52,5 % тормозит рост перевивной КЭ, нормализует функциональную активность нейтрофилов крови и усиливая активность перитонеальных макрофагов у мышей с КЭ. BCG усиливает токсическое действие ДМГ и не влияет на частоту и множественность индуцированных ДМГ опухолей.

С.В. Дидук, К.В. Смирнова
**ТОЧЕЧНЫЕ МУТАЦИИ ГЕНА LMP-1
ВИРУСА ЭПШТЕЙНА-БАРР
В МОДИФИКАЦИИ
СТРУКТУРНЫХ КОМПОНЕНТОВ
ЦИТОСКЕЛЕТА КЛЕТОК
КРЫСИНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ RAT-1**
РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Вирусный онкоген LMP-1 представляет собой трансмембранный белок с молекулярной массой 63 кД, чьи свойства во многом определяются его высоким сходством с членами семейства рецепторов факторов некроза опухоли (TNF-R).

Приоритетность изучения генетических перестроек в LMP-1 становится очевидной, учитывая их влияние на активность ключевых внутриклеточных молекул, таких как NF-κB, AP-1, iNOS и ряда других.

Особенно пристальное внимание вызывают наиболее часто встречающиеся мутации – I85L, F106Y, G212S, S366T, а также Сао-подобные делеции (10 аминокислот).

Цель исследования. Определить влияние мутаций (G212S/T350A/S366T) в гене LMP-1 на изменения структурных компонентов цитоскелета, таких как паксиллин и актиновые филаменты.

Материалы и методы. Для проведения экспериментов использовали клеточную линию крысиных фибробластов Rat-1, ретровирусный вектор pBabe-puro, в который предварительно клонировали полноразмерный ген LMP-1 с мутациями (G212S/T350A/S366T), а также его контрольные варианты LMP-1-B95-8 и LMP-1-Сао. В работе использовались методы молекулярного клонирования, трансфекция, иммуноблоттинг, флуоресцентная микроскопия.

Результаты. Используя методику прижизненной окраски актиновых структур клетки, наблюдали образование многочисленных стресс-фибрилл в клетках Rat-1 при накоплении в них как прототипного варианта LMP-1-B95-8, так и LMP-1-Triple, несущего все три исследуемых мутации. В цитоплазме клеток Rat-1, синтезирующих LMP-1-Сао, мы обнаружили лишь отдельные тонкие пучки актиновых филаментов. С помощью метода иммунофлуоресцентной микроскопии при использовании соответствующих специфических антител нам удалось выявить образование длинных штриховых контактов паксиллина, расположенных ближе к основанию ламеллы в клетках, трансфицированных LMP-1-B95-8 и LMP-1-Triple. При этом накопление LMP-1-Сао приводило лишь к формированию точечных контактов паксиллина. Во всех клетках, синтезирующих варианты LMP-1, актиновые пучки, а также паксиллины были ориентированы вдоль длинной оси клетки.

Выводы. Проведенное нами исследование позволило впервые показать недостаточность трех аминокислотных замен для проявления способности белка LMP-1 вызывать изменения таких структурных компонентов цитоскелета, как паксиллин и актиновые филаменты. Дальнейший анализ функциональной активности более дивергентных вариантов белка LMP-1 ВЭБ, вероятно, позволит выявить молекулярный механизм, приводящий к трансформации клетки этим вирусом.

Е.А. Дудко, А.С. Шатурова, А.Е. Булысов,
Э.Э. Джурев, Т.А. Богуш, Б.Е. Полоцкий
**ЭКСПРЕССИЯ ЭСТРОГЕНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ
В ТКАНИ НМРЛ**
РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Цель исследования. Результаты последних лет демонстрируют важную роль эстрогенов в возникновении и развитии немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ), при этом стимуляция пролиферации клеток под воздействием эстрогенов, так же как и ингибирование пролиферации при воздействии антиэстрогенов реализуется только в клетках с экспрессией эстрогеновых рецепторов (ЭР).

Ключевая роль в индукции пролиферации клеток НМРЛ в ответ на воздействие эстрогенов принадлежит ЭРβ, которые являются прогностическим маркером благоприятного течения НМРЛ. Тем не менее, сведения об экспрессии ЭРβ в ткани немногочисленны и часто противоречивы из-за обилия полуколичественных методов их оценки.

Целью настоящего исследования являлась количественная оценка экспрессии ЭРβ в ткани НМРЛ с использованием разработанного и запатентованного авторами иммунофлуоресцентного метода с использованием проточной цитофлуориметрии.

Материалы и методы. Работа проведена на опухолевых образцах, полученных во время хирургических операций 32 пациентов НМРЛ.

Для выявления ЭРβ использованы антитела: первичные моноклональные (ab288/14C8, Abcam), вторичные поликлональные (козий IgG, конъюгированный с FITC, против мышиного IgG – F2772, Sigma), изотипические – мышиный IgG2a (ab18414, Abcam). Флуоресценцию клеток анализировали на проточном цитофлуориметре FACSCanto II (Becton Dickinson) с помощью программы WinMDI, количество специфически окрашенных клеток определяли методом Колмогорова-Смирнова.

Результаты. 1. Частота экспрессии ЭРβ, то есть количество клеток, экспрессирующих ЭРβ в исследуемой опухоли, варьировала у разных больных от 8 до 77 %. Средний показатель составил $34,2 \pm 15,4$ %. 2. Интенсивность экспрессии ЭРβ в исследованных клетках, оцененная в единицах превышения специфической флуоресценции клеток по сравнению с изотипическим контролем, варьировала у разных больных от 1,2 до 5,4 раз. Средний показатель превышения составил $1,9 \pm 0,7$ раз. 3. Опухоли с низкой частотой экспрессии ЭРβ (менее чем в 30 % клеток) выявлены в 43,8 %, с высокой частотой экспрессии ЭРβ (более чем в 50 % клеток) – в 18,8 % случаев, с умеренной активностью – у 37,5 % пациентов. 4. Опухоли с низкой интенсивностью экспрессии ЭРβ (превышение специфической флуоресценции клеток по сравнению с изотипическим контролем менее чем в 2 раза) выявлены в 41 %, а с высокой – в 59 % случаев.

Выводы. Высокая частота и интенсивность экспрессии ЭРβ в ткани НМРЛ свидетельствует, что значительная часть пациентов являются потенциальными претендентами на проведение гормональной терапии. Считаем, что по аналогии с раком молочной железы наиболее реальным может быть применение антиэстрогенов в адъювантном режиме, в том числе и после завершения химиотерапии в периоде динамического наблюдения за больными. Такую группу может составить около половины больных НМРЛ с высокой и умеренной частотой экспрессией ЭРβ в опухолевой ткани.

Исследование поддержано Грантами РФФИ № 10-04-00551-а и 11-04-00542-а.

А.С. Дудниченко¹, Ю.М. Краснопольский², В.И. Швец³
НАНОТЕХНОЛОГИИ В ОНКОЛОГИИ:
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ
ЛИПОСОМАЛЬНЫХ ЦИТОСТАТИКОВ

¹Харьковская Медицинская Академия Последипломного Образования, Украина

²Кафедра технологий НТУ «ХПИ», Харьков, Украина

³МИТХТ им. М.В. Ломоносова, Москва

Задачи исследования. Разработка и использование липосомальных форм цитостатиков в онкологии.

Материалы и методы. При проведении химиотерапии (ХТ) нами использованы липосомальный доксорубин (Липодокс) и липосомальный цисплатин (Липоплат). Наш опыт включает ХТ липосомальными цитостатиками при метастатическом раке желудка (IV стадия, 37 больных), метастатическом колоректальном раке (24 больных), местнораспространенном раке молочной железы (64 больных) и распространенном раке легкого (35 больных).

Результаты и выводы. При метастатическом раке желудка (Липодокс, Липоплат) получено увеличение медианы выживаемости с 4,9 мес. до 6,1 мес. ($p < 0,05$) по сравнению с химиотерапией стандартным доксорубином и цисплатином. При метастатическом колоректальном раке медиана выживаемости возросла соответственно с 5,9 мес. до 8,3

мес. При местнораспространенном раке молочной железы операция выполнена в 41 % случаев в основной и в 38 % случаев в контрольной группе после ХТ стандартным доксорубином. Сократился срок перевода неоперабельной опухоли в операбельную с 84 дней в контрольной группе до 42 дней в основной группе. Уменьшилась токсичность ХТ в основной группе. При распространенном неоперабельном раке легкого программу ХТ (цисплатин и этопозид, 6 курсов в течение 18 недель) удалось выполнить у 21 из 35 больных (60 %) при использовании в схеме липосомального цисплатина, в контрольной группе без липосом – только в 40 % случаев. Остальным больным ХТ остановлена ввиду токсичности (снижение клиренса креатинина). Наш клинический опыт позволяет широко рекомендовать использование липосомальных цитостатиков в онкологии.

З.М. Еникеева, А.А. Юсупова, Т.М. Фузаилова

ИЗУЧЕНИЕ

ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ КОЛХАМИНА

Республиканский онкологический центр МЗ Республики Узбекистан, Ташкент

Цель исследования. Изучение противоопухолевого действия новых производных алкалоида колхамина (К-2, К-19, К-30), проявивших высокую активность *in vitro* (NCI USA), на животных с опухолями АКАТОЛ, АКАТОН и Саркома S 180.

Материалы и методы. Острую токсичность исследуемых соединений изучали с использованием стандартного метода Литчфилда-Уилкоксона. Противоопухолевую активность изучали на 3-х перевивных мышиных штаммах: АКАТОЛе, АКАТОНе (мыши линии BALB/c) и саркоме S 180 (беспородные мыши). Штаммы опухолей перевивали согласно инструкциям (Софьина З.П. и др., 1980). Количество животных в опытных группах от 6 до 10, в контрольных группах – согласно инструкциям (З.П. Софьина и др., 1980).

Лечение животных начинали через 48 или 72 ч после имплантации опухоли. Препараты вводили внутривенно ежедневно в течение 10 суток. Опыт прекращали не ранее, чем через 7 дней после последнего введения препарата животным.

При оценке противоопухолевой активности изучаемых соединений определялся процент торможения роста опухоли (З.П. Софьина и др., 1980, Е.М. Трещалина и др., 2005), а также потеря массы тела, влияние на массу селезенки, влияние на гемопоэз. Контролем служили группа животных с введением физиологического раствора.

Результаты. Найдены ЛД₅₀ новых веществ при внутривенном применении на беспородных мышах: К-2 – 1100 мг/кг, К-19 – 350 мг/кг, К-30 – 95 мг/кг.

На опухолевом штамме Саркома 180 %ТРО по объему и массе в изученных дозах составил: К-2 в суммарной дозе 1000 мг/кг (99,02/89,72 %), К-19 в суммарной дозе 400 мг/кг (99,78/93,1 %), и К-30 в суммарной дозе 80 мг/кг (88,13/59,14 %). На штамме АКАТОН % ТРО К-2 в той же дозе (100/75,0 %), К-19 в суммарной дозе 300 мг/кг (91,22/67,53 %) и К-30 в суммарной дозе 80 мг/кг (82,24/69,44 %).

На опухолевом штамме АКАТОЛ %ТРО К-2 в той же дозе (99,99/98,19 %), К-19 в суммарной дозе 350 мг/кг (100/94,62 %) и К-30 в суммарной дозе 60 мг/кг (27,84(М) %).

Кроме того, новые препараты не снижают массы тела и селезенки подопытных животных и не выражено снижают количество лейкоцитов.

Выводы. Изучение токсичности и противоопухолевой активности 3-х производных колхамина (К-2, К-19 и К-30) показало, что вещества менее токсичны, чем колхамин в 1,7–20 раз, при этом противоопухолевая активность К-2 и К-19 на 2–3 штаммах опухолей превышает 90 %, что предполагает их дальнейшее углубленное изучение на других штаммах опухолей.

К.В. Ермакова, З.С. Смирнова, И.Ю. Кубасова, Л.М. Борисова, М.П. Киселева, Н.А. Оборотова
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛИЗОМУСТИНА ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ГЛИОМАХ
 РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Введение. Лечение злокачественных глиом является одной из наиболее актуальных проблем нейроонкологии и нейрохирургии. Несмотря на современные достижения в медицине, продолжительность жизни больных со злокачественными опухолями головного мозга даже при комбинированном лечении не превышает 12 мес. Золотым стандартом в химиотерапии злокачественных глиом в настоящее время является алкилирующий препарат второго поколения Темодал, хорошо проникающий через гематоэнцефалический барьер при пероральном пути введения. В настоящем исследовании изучается эффективность отечественного препарата Лизомустина при злокачественных глиомах в сравнении с Темодалом.

Материалы и методы. Работа выполнена на двух интракраниально перевиваемых моделях опухолей головного мозга крыс: глиоме С6 и глиобластоме 101/8. Лизомустин вводили в/в однократно в дозе 80 мг/кг, Темодал дважды *per os* с интервалом 48 ч в суммарной дозе 50 мг/кг. Критерием эффективности служило увеличение продолжительности жизни (УПЖ, %) опытных крыс по сравнению с контрольными животными.

Результаты. При изучении эффективности противоопухолевых препаратов в монотерапии на глиоме С6 установлено, что средняя продолжительность жизни опытных крыс после химиотерапии с Темодалом составляет 25,6±3,5 дней, а после химиотерапии с Лизомустином – 34,3±5,7 дней. При этом УПЖ составляет 26 % и 68 % соответственно. При лечении крыс с глиобластомой 101/8 эффективность этих противоопухолевых препаратов оказалась выше. Средняя продолжительность жизни опытных крыс после лечения Темодалом составляет 24,9±4,3 дней, а УПЖ – 54 %. После лечения Лизомустином 37,5 % опытных крыс были живы в течение 6 мес., а при вскрытии этих животных опухоль у них не обнаружена, и это расценивалось как излечение. Средняя продолжительность жизни остальных 62,5 % животных составляет 34,9±5,9 дней, УПЖ – 83 %.

Заключение. В результате проведенных исследований установлено, что глиома С6 менее чувствительна к химиотерапии, чем глиобластома 101/8. Эффективность Лизомустина превосходит противоопухолевое действие Темодала при лечении экспериментальных глиом в монотерапии.

М.П. Завелевич, А.А. Фильченков, В.А. Надгорная
ИНДУКЦИЯ КВЕРЦЕТИНОМ АПОПТОЗА EX VIVO ПРИ В-КЛЕТОЧНЫХ ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ
 ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев

Введение. Показано, что кверцетин может индуцировать апоптоз в ряде клеточных линий, включая и клетки перевиваемых злокачественных лимфоидных

клеток, а также сенсibilизировать резистентные опухолевые клетки к индукции в них апоптоза цитотоксическими препаратами. Механизмы таких эффектов кверцетина остаются недостаточно изученными.

Цель исследования. Изучение апоптогенного и апоптоз-модулирующего эффектов кверцетина в кратковременных культурах лимфоидных злокачественных клеток человека.

Материалы и методы. Клетки больных В-клеточными лимфопрлиферативными заболеваниями выделяли в градиент фикола-верографина и культивировали в среде RPMI-1640 с добавлением 10 % сыворотки эмбрионов коров. Использовали кверцетин (Sigma, США) и вепезид (Bristol-Myers Squibb SpA, Италия). Содержание гиподиплоидных клеток определяли с помощью цитофлуориметра FACSCalibur (Becton Dickinson, США) в популяциях, окрашенных пропидия йодидом. Содержание ассоциированных с апоптозом белков Cas и Bcl-2 определяли методом иммуноблоттинга.

Результаты. Кверцетин в концентрации 40 мкмоль/л индуцирует апоптоз (содержание гиподиплоидных клеток 30–60 %) примерно в 75 % первичных культур клеток, полученных от больных с В-клеточными лимфопрлиферативными заболеваниями, включая В-ХЛЛ, в том числе CD38⁺ (с неблагоприятным клиническим течением), а также НЗЛ маргинальной зоны в фазе лейкомизации. В меньших концентрациях кверцетин значительно усиливает апоптоз, индуцированный в клетках В-ХЛЛ субтоксическими концентрациями вепезида. В CD38⁺ клетках, инкубированных с кверцетином, практически не обнаруживается экспрессия ассоциированного с микротрубочками белка Cas при сохранении неизменного уровня белка Bcl-2.

Выводы. Кверцетин является индуктором и модификатором апоптоза в злокачественных лимфоидных клетках человека *ex vivo*.

Е.Н. Захарова^{1,2}, Т.Н. Заботина¹, Д.Ю. Блохин^{1,2}, П.К. Иванов^{1,2}
ПОЛУЧЕНИЕ КОНЬЮГАТОВ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ С ФЛУОРОФОРОМ ALEXA-488 ДЛЯ АНАЛИЗА КЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ МЕТОДОМ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ
¹РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва
²НПЦ МедБиоСпектр, Москва

Цель исследования. Оптимизация условий получения флуоресцентных зондов на основе Alexa-488 и мышиных моноклональных антител (МКА) серии ICO для иммунофенотипирования лимфоцитов человека.

Материалы и методы. В работе использованы МКА (НПЦ МедБиоСпектр) к В- (CD20, клон ICO-180) и Т-клеточным (CD4, клон ICO-86; CD8, клон ICO-31) рецепторам лимфоцитов человека, сукцинимидный эфир красителя Alexa-488. Для получения конъюгатов МКА инкубировали с сукцинимидным эфиром флуорофора в молярном соотношении от 1:2 (М:М) до 1:100 (М:М) в карбонатном буфере (pH 8,3) при +18–25 °C в темноте в течение 90 минут. Очистку конъюгатов от несвязавшегося флуорофора проводили гель-хроматографией на колонке Sephadex G-25, уравновешенной фосфатно-солевым буфером, pH 7,4. Плотность мечення рассчитывали по формуле: $[dye]/[protein] = 3,1 \cdot (A_{494}) / (A_{280} - (0,11 \cdot A_{494}))$. Полученные конъюгаты стабилизировали 1,0% раствором БСА с 0,1% азида натрия. Специфическую активность конъюгатов оценивали в РИФ на проточном цитометре FACSCalibur (BD Biosciences) и регистрацией флуоресценции по каналу FL1. В качестве контроля применяли МКА к тем же антигенам, конъюгированные с FITC и PE (BD Pharmingen, Caltag).

Результаты. Получены конъюгаты МКА и Alexa-488 с различным соотношением краситель/белок(D/P). Показано, что оптимальным соотношением метки и иммуноглобулина для конъюгата CD20/ Alexa-488 является диапазон 5–13,5:1 (моль:моль), для конъюгатов CD4/ Alexa-488 и CD8/ Alexa-488 в диапазоне 4–9:1 и 4–10:1 (моль:моль) соответственно. Для определения рабочей концентрации конъюгатов МКА/ Alexa-488 исследовали их активность в диапазоне исходных концентраций 0,5–100 мкг/мл.

Оказалось, что для конъюгатов CD4/ Alexa-488 и CD8/ Alexa-488 диапазон исходных рабочих концентраций составляет 2,5–10 мкг/мл, а для конъюгата CD20/ Alexa-488 – 5–50 мкг/мл.

Заключение. Таким образом, конъюгирование флуоресцентного красителя Alexa-488 с МКА в оптимальных соотношениях не оказывало влияния на иммунохимические свойства последних, что позволяет рекомендовать к использованию синтезированные конъюгаты в диапазоне рабочих концентраций для цитометрического анализа клеточных популяций с анализом по FL-1 каналу флуоресценции.

Н.И. Зимакова¹, В.Е. Небольсин², А.П. Будько¹, Е.Ю. Колесникова¹, З.Г. Дейчман¹, А.Е. Золотарев¹, Г.А. Бадун³, М.Г. Чернышева³

ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКИ ДИКАРБАМИНА У МЫШЕЙ ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ КУРСОВОМ ЕЖЕДНЕВНОМ ВВЕДЕНИИ В ТЕЧЕНИЕ 21 СУТОК

¹РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

²ОАО «Валента Фарм», Москва

³МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Задачи исследования. Изучение кинетики накопления Дикарбамина в крови и органах мышей и его выведения с мочой и калом животных при пероральном ежесуточном 21-дневном введении препарата.

Материалы и методы. В исследовании использовали ³H-Дикарбамин, полученный методом термической активации газообразного трития. Препарат вводили перорально в дозе 1,5 мг(0,69 мКи)/кг или 15 мг(0,69 мКи)/кг ежесуточно в течение 21-дневного курса мышам линии BDF₁. Забор органов и тканей проводили через 1 ч и 24 ч после 1, 3, 5, 7, 14 и 21 введения препарата. Отбирали кровь, печень, почки, легкие, головной мозг и костный мозг. Кал и мочу собирали ежесуточно перед каждым последующим введением препарата. Отобранный материал подвергали щелочному гидролизу, аликвоты образцов анализировали в сцинтилляционной жидкости «Ultima gold», Perkin Elmer, на счетчиках 1219 Rack Beta, LKB Vallac.

Результаты. После перорального введения ³H-Дикарбамина в дозах 1,5 мг/кг или 15 мг/кг происходило быстрое всасывание препарата и распределение в органах и тканях с максимальными величинами концентрации во временных точках 30 мин – 1 ч, затем к 24ч наблюдалось медленное снижение его концентрации. Каждое последующее введение препарата приводило к возрастанию уровней его концентрации в контрольных точках 1ч и 24 ч с плавным выходом к 5–7 суткам на стационарные уровни, характерные для каждой временной точки. Дальнейшее введение препарата позволяло поддерживать его концентрацию в органах и тканях мышей на максимальных уровнях в течение всего курсового 21-дневного введения. Достигнутые уровни максимальных концентраций ³H-Дикарбамина

были пропорциональны величине вводимой дозы, а сроки их достижения для двух доз были равными. Соотношения площадей под фармакокинетическими кривыми для всех органов и тканей, соответственно для доз 15 мг/кг и 1,5 мг/кг, были близки к показателю 10, что свидетельствовало о прямопропорциональной зависимости концентрационных характеристик препарата от введенной дозы. Была показана высокая тропность ³H-Дикарбамина к костному мозгу, что коррелирует со специфическим механизмом защитного действия препарата. Независимо от дозы показатель тропности варьировал в диапазоне 15–17, что соответствует степени превышения концентрации препарата в костном мозге к крови. Выведение ³H-Дикарбамина из организма животных происходило с мочой и калом. Средние величины выведения за 22 суток для дозы 1,5 мг/кг составили: с мочой – 29,5 % и калом – 60 %, для дозы 15 мг/кг соответственно 30,1 % и 63,9 %.

Выводы. В режиме 21-кратного ежесуточного введения ³H-Дикарбамина в дозах 1,5 мг/кг и 15 мг/кг происходило накопление препарата в органах и тканях мышей в той и другой дозах с плавным выходом в течение 5–7 дней на стационарные уровни, характерные для каждой временной точки. Уровни максимально достигнутых концентраций ³H-Дикарбамина в органах и тканях были характерными для каждой дозы и их значения находились в прямопропорциональной зависимости от величины вводимой дозы.

Курсовое введение препарата в течение 21 суток позволяло поддерживать его концентрации на уровне максимальных. Высокая тропность Дикарбамина к костному мозгу коррелирует с миелопротекторным эффектом препарата. Для доз 1,5 мг/кг и 15 мг/кг показатели выведения ³H-радиоактивных продуктов с мочой и калом животных соответственно были близки по своим значениям: 29,5–30 % с мочой и 60–64 % с калом.

Н.И. Зимакова¹, А.П. Будько¹, Е.Ю. Колесникова¹, З.Г. Дейчман¹, А.Е. Золотарев¹, Г.А. Бадун², М.Г. Чернышева²

ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЦИФЕТРЕЛИНА

¹РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

²МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Задачи исследования. В рамках доклинического изучения нового отечественного противоопухолевого препарата Цифетрелина была изучена его фармакокинетика: распределение в крови, органах и тканях мышей после однократного перорального введения препарата.

Материалы и методы. Для количественного определения Цифетрелина в биологических объектах был получен меченый тритием препарат, путем химического синтеза ³H-тетрапептида и цистеина.

Для введения радиоактивной метки молекулы тетрапептида подвергались бомбардировке термически активированным газообразным тритием с последующей очисткой целевого продукта и его идентификацией. ³H-Цифетрелин вводили мышам линии СВА с перевитой внутримышечно Ca 755 перорально в дозе 10 мг(761,96 мКи)/кг.

Определение концентрации ³H-Цифетрелина проводили в следующих органах и тканях мышей: крови, плазме, легких, печени, почках, селезенке, головном мозге, костном мозге, поджелудочной железе, стенке желудка, стенке кишечника, надпочечниках, лимфоузлах, тимусе, Ca 755.

Образцы крови и органов отбирали через 15 мин, 30 мин, 1 ч, 3 ч, 5 ч, 24 ч, 48 ч и 96 ч после введения препарата и подвергали щелочному гидролизу. Затем аликвоты гидролизатов анализировали в сцинтилляционной жидкости «Ultima gold», Perkin Elmer, на счетчиках 1219 Rack Beta, LKB Wallac.

Результаты. ^3H -Цифетрелин быстро всасывался и распределялся в органах и тканях. Максимальные концентрации измеряли в интервале времени 15–30 мин., затем наблюдали снижение уровней радиоактивности. По соотношению максимальных концентраций препарата в объектах исследования к крови, органы и ткани можно разделить на следующие группы: желудок, кишечник, костный мозг с превышением в 105–21 раз; почки, печень, легкие, поджелудочная железа, надпочечники – в 2,4–1,1 раза; селезенка, тимус, Са 755, лимфоузлы, головной мозг – в 1,0–0,6 раза. Сравнение площадей под фармакокинетическими кривыми, отражающими экспозицию препарата во времени, показало, что тканями-мишенями для ^3H -Цифетрелина являются костный мозг и желудок. Величины соотношения площадей под фармакокинетическими кривыми, рассчитанные для костного мозга и желудка к крови и показывающие тропность препарата к тканям-мишеням, составляли соответственно 18,3 и 10,7.

Выводы. Фармакокинетические исследования показали доступность ^3H -Цифетрелина для всех изученных органов и тканей, в т.ч. для головного мозга и Са 755. Наибольшую тропность препарат проявил к костному мозгу и желудку.

С.Н. Зудилов¹, Д.В. Новиков¹, Т.С. Сахарнова¹,
А.В. Алясова², В.В. Новиков¹

ВСТРЕЧАЕМОСТЬ МРНК МЕМБРАННОЙ И РАСТВОРИМОЙ ФОРМ ICAM-1 В ОПУХОЛЕВЫХ ОЧАГАХ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ РТК

¹НИИ молекулярной биологии и региональной экологии ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород

²Нижегородская государственная медицинская академия

Задачи исследования. Определить встречаемость мРНК мембранной и растворимой формы белка ICAM-1 в опухолевых очагах у больных раком толстого кишечника (РТК) на разных стадиях развития заболевания.

Материалы и методы. 43 образца клеток опухолевых очагов больных раком толстого кишечника исследовали на присутствие мРНК мембранной и растворимой формы белка ICAM-1 методом ОТ-ПЦР с использованием специфических праймеров.

Результаты. Установлено, что мРНК растворимой формы ICAM-1 обнаруживалась в опухолевых очагах у больных РТК в 56 % случаев на I стадии развития опухолевого процесса, в 37 % случаев на второй стадии, в 20 % случаев на III стадии и не обнаруживалась на IV стадии развития опухолевого процесса. При этом мРНК мембранной формы ICAM-1 обнаруживалась в опухолевых очагах у больных РТК на I стадии развития заболевания в 89 % случаев, на II стадии в 95 % случаев, на III стадии в 90 % случаев, а на четвертой стадии мРНК мембранной формы ICAM-1 обнаруживалась лишь в 60 % случаев. Среднее содержание растворимой формы белка ICAM-1 в сыворотке крови в норме равно 60 ± 10 U/ml, а при РТК на I стадии оно составляло – 94 ± 16 U/ml, на II стадии – 128 ± 13 U/ml, на третьей стадии – 126 ± 23 U/ml, а на четвертой стадии – 187 ± 66 U/ml.

Выводы. Частота встречаемости мРНК растворимой формы ICAM-1 в опухолевых очагах у больных РТК падала по мере прогрессирования заболевания и на четвертой стадии РТК не обнаруживалась ни у одного из протестированных больных. Выявлена тенденция

к снижению частоты встречаемости мРНК мембранной формы ICAM-1 на четвертой стадии РТК. Сывороточное содержание растворимого белка ICAM-1 возрастало при развитии РТК. Полученные результаты свидетельствуют о том, что источником высокого уровня растворимой формы белка ICAM-1 на поздних стадиях РТК не являются клетки опухолевого очага.

Работа выполнена при поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 200–2013 годы.

Ф.А. Ибрагимов, Ю.В. Береснева, Н.Л. Выпова

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ БЕЛКОВОГО КОМПЛЕКСА SP-2

Институт биоорганической химии АН РУЗ, Ташкент

Задачи исследования. Изучение хронической токсичности белкового комплекса sp-2 из шрота сои (молекулярная масса основного компонента 30 кДа), обладающего антиканцерогенными свойствами, с целью установления характера и выраженности его повреждающего действия на организм экспериментальных животных и оценка его безопасности.

Материалы и методы. Общетоксическое действие субстанции препарата sp-2 при пероральном многократном (1мес.) применении было изучено на 50 нелинейных белых крысах (самцах и самках) с начальной массой 220 ± 15 г и 12 кроликах серой масти обоего пола с начальной массой $2,5 \pm 0,2$ кг. Животные находились в условиях вивария на обычном рационе питания. Субстанцию препарата sp-2 вводили ежедневно в течение 30 дней, перорально крысам в дозах 76, 150 и 300 мг/кг и кроликам в дозах 30, 60 и 120 мг/кг. Контрольные животные получали дистиллированную воду в максимальном объеме. Гематологические и биохимические исследования проводили через 10 дней и 1 мес. с начала эксперимента. В конце эксперимента часть наркотизированных животных (этаминал-натрия) забивали декапитацией и забирали материал для патоморфологических исследований, согласно перечню, утвержденному Фармакологическим Комитетом РУЗ. Часть животных оставляли для изучения процесса восстановления.

Результаты. Изучение хронической токсичности препарата sp-2 на крысах и кроликах показало, что препарат не влиял на периферическую кровь, функцию почек и печени крыс и кроликов. Препарат оказывал небольшое гипокоагуляционное действие на свертывание крови и влиял на поведенческие реакции крыс после 10-кратного введения. Спустя 1 мес. восстановительного периода, изучаемые показатели в опытных группах соответствовали контрольным значениям. Изучение гистоструктуры некоторых внутренних органов экспериментальных животных при длительном применении (1 мес.) показало, что белковый комплекс sp-2 в структуре внутренних органов не вызывает морфологических изменений.

Вывод. Следовательно, предлагаемый новый препарат протеина sp-2 является безопасным средством и может быть рекомендован для клинической медицины.

Е.В. Игнатьева, Н.А. Дмитричева,

О.Л. Орлова, И.В. Ярцева

ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ОКТАСЕНСА

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Октасенс – новый липофильный фотосенсибилизатор ближнего инфракрасного диапазона, синтезированный в ФГУП «ГНЦ «НИОПИК» и предназначенный для ФДТ злокачественных опухолей.

Для использования октасенса в качестве лекарственного средства, исходя из его физико-химических свойств, потребовалась разработка новой наноструктурированной модели лекарственной формы, которая была получена в лаборатории разработки лекарственных форм РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, и представляет собой водно-эмульсионную мицеллярную дисперсию октасенса.

Цель работы. Изучение стабильности предложенной модели лекарственной формы.

Результаты и выводы. Исследования проводились по следующим критериям качества: описание; подлинность; pH раствора; размер частиц, количественное определение основного действующего вещества. Подлинность препарата подтверждалась электронным спектром поглощения, характерным для октасенса. Определение среднего диаметра везикул и стандартного отклонения их распределения проводили на лазерном корреляционном спектрометре Submicron Particle Sizer NICOMP-380 (США). Величину pH определяли потенциометрически. Для количественного определения основного действующего вещества использовали метод спектрофотометрии в видимой области. Количественное содержание основного действующего вещества определяли спектрофотометрически, предварительно проведя экстракцию октасенса из водно-эмульсионной дисперсии хлороформом. Оптическую плотность раствора измеряли в максимуме поглощения при длине волны 726 ± 3 нм относительно хлороформа. Относительная ошибка определения не превышала 2,0 %.

Исследуемая лекарственная форма октасенса хранилась в сухом защищенном от света месте при температуре не выше 25 °С. Повторный анализ, проведенный через два месяца, показал, что при хранении в данных условиях величины показателей «рН» и «количественное определение» существенно уменьшились. При дальнейшем наблюдении (срок хранения 4 мес.) во всех флаконах наблюдалось появление агрегатов. Таким образом, предложенная модель лекарственной формы (водно-эмульсионная мицеллярная дисперсия октасенса) оказалась нестабильной и не выдержала хранения на коротких сроках.

Работа поддержана Правительством г. Москвы.

О.А. Иноземцева, Г.С. Терентюк, Н.И. Дихт, И.Л. Максимова, Б.Н. Хлебцов, Н.Г. Хлебцов

ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЕ ЗОЛОТЫХ НАНОЧАСТИЦ КАК СПОСОБ АКТИВИЗАЦИИ ИХ ЭНДОЦИТОЗА РАКОВЫМИ КЛЕТКАМИ

Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского

Наночастицы коллоидного золота играют важную роль в биомедицинских приложениях благодаря наличию ряда преимуществ, основным из которых является сочетание уникальных оптических свойств (явления плазмонного резонанса) с возможностью биомодификации их поверхности лигандами различной природы. Кроме указанных преимуществ золотые наночастицы способны к локальному нагреву в результате поглощения электромагнитного излучения диапазона «окна прозрачности» воды (800 – 900 нм).

Например, золотые наностержни имеют интенсивную полосу поглощения в ближнем ИК диапазоне и демонстрируют высокую эффективность фототермической конверсии. Иногда степень интернализации наночастиц ограничена низкой эффективностью эндоцитоза. Следовательно, чтобы увеличить интернализацию наночастиц, их поверхность следует модифицировать молекулами-лигандами, которые могут быть эффективно усвоены целевыми клетками через рецептор-опосредованный эндоцитоз. Подобная модификация наночастиц имеет своей целью увеличение специфического связывания клетками и активации эндоцитоза благодаря распознаванию лигандов поверхностными рецепторами клетки. В качестве подобных лигандов интересны молекулы углеводов. Особенности строения и развития раковых клеток приводят к значительной экспрессии различных рецепторов на их поверхности, это проявляется также в значительном росте количества подобных лектинов рецепторов. Таким образом, модификация поверхности наночастиц коллоидного золота молекулами различных углеводов является актуальной.

Нами были получены золотые наностержни, поверхность которых была модифицирована путем замены стабилизатора (ЦТАБ) молекулами тиоглюкозы за счет образования связи S-Au. Образование данной связи доказывали путем регистрации спектров комбинационного рассеяния полученных модифицированных образцов при возбуждении лазерным излучением с длиной волны 633 нм.

Е.М. Кадукова, С.Н. Сушко, А.Ф. Маленченко
**ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ
ВОДНЫХ ЭКСТРАКТОВ БАЗИДИОМИЦЕТОВ**
ГНУ «Институт радиобиологии НАН Беларуси», Гомель

Задачи исследования. Оценить развитие опухолевого процесса в легких у мышей, а также эффективность терапии карциномы Эрлиха (АКЭ) циклофосфаном (ЦФ) на фоне приема водных экстрактов грибов опенка зимнего, штамм 229 (ВЭО), аурикулярии уховидной (ВЭА) и веселки обыкновенной (ВЭВ).

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на мышах линии Af (возраст 2–3 мес.) массой 19–22 г. Противоопухолевую активность ВЭО и ВЭА исследовали в тесте с определением выхода спонтанных и индуцированных уретаном аденом в легких у мышей. Определялось количество аденом/мышь и частота опухолеобразования. Изучение влияния ВЭВ на рост опухоли (определение ее объема) и эффективность терапии ЦФ при совместном применении проводилось на мышах, которым переносили под кожу клетки АКЭ в дозе по 6 млн клеток на мышь.

Результаты. Профилактический прием ВЭО и ВЭА снизил выход спонтанных и индуцированных уретаном аденом в легких у мышей, причем если на фоне приема ВЭА в большей мере уменьшалось количество аденом/мышь, то после употребления ВЭО увеличивалась доля животных, у которых не регистрировались опухоли.

При приеме ВЭВ мышами-носителями АКЭ выявлена тенденция к торможению скорости опухолевого роста и снижению объемов опухоли, а также к усилению эффекта противоопухолевого алкилирующего препарата ЦФ.

Так, введение мышам-опухоленосителям ЦФ через 2 недели после перевивки АКЭ привело к снижению объема опухоли на 57,9 %.

Добавление в схему лечения ВЭВ вызвало более значительное торможение роста опухоли – на 64,5 % по сравнению с носителями АКЭ, не получившими лечения, и на 15,6 % по сравнению с животными, обработанными ЦФ (21 сутки после инокуляции опухоли). В последующие сроки наблюдения эта тенденция сохранялась.

Выводы. В эксперименте показано, что водные экстракты исследованных грибов обладают противоопухолевыми свойствами и могут рассматриваться в качестве сырья для создания лечебно-профилактических препаратов в онкологии.

*Е.Л. Кадырова, Е.Ю. Григорьева,
Е.Ю. Колдаева, М.Г. Найденов*

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИОНОВ C^{14} ИССЛЕДОВАНИЯ IN VITRO *РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва*

Цель работы. Исследование цитотоксического действия ионов углерода высоких энергий на опухолевые клетки млекопитающих.

В работе использовали пучок ионов углерода (C^{14}), который был реализован на ускорительном комплексе ТВН Института теоретической и экспериментальной физики (ТНВ-ИТЭФ). Ускорительный комплекс ТВН-ИТЭФ позволяет получать пучки ионов углерода с энергией в диапазоне от 2400 МэВ до 3600 МэВ.

Материалы и методы. Были использованы две стандартные тест-линии опухолевых клеток – мышьяная меланома В16F10 (среда RPMI 1640 с 10% термически инактивированной на водяной бане при +56 °С в течение 30 мин. телячьей эмбриональной сыворотки (ТЭС), L-глутамином 4 мМ, гентамицином) и клетки яичников китайских хомячков (СНО-K1) – среда Ham's F₁₂ Medium с 10 % ТЭС, глутамином, пенициллином и стрептомицином. Для оценки воздействия углерода использовали тест на колониеобразование. Для этого клетки (контрольные и облученные) засеивали в 6-луночные планшеты в количестве 2, 4 и 8 тыс. клеток на лунку; при низких дозах облучения может наблюдаться как подавление, так и стимуляция роста опухолевых клеток. СНО-K1 линию рассеивали по 300 и 500 клеток на лунку. Каждая доза облучения была повторена не менее трех раз. Каждый вариант опыта рассеивали на две лунки. Подсчитывали количество выросших колоний на 3, 5, 7, 10 дни с использованием инвертированного микроскопа ЛОМО (Россия) при увеличении $\times 10$. За колонию принимали группу не менее чем 20 живых клеток одинаковой морфологии, расположенных в непосредственном контакте друг с другом.

Результаты. Опухолевые клетки облучали высокоэнергетичными ионами C^{14} в дозах, эквивалентных диапазону 1–13 Гр (1, 2, 4, 5, 7, 10, 13 Гр), в двух положениях: «на входе» и «на пике Брэгга». После облучения клетки снимали с пластика и проводили оценку количества погибших при самом облучении клеток рутинным методом по включению трипанового синего. Уже в первые часы после облучения в некоторых опытных образцах было обнаружено существенное уменьшение количества живых клеток по отношению к необлученным. Эффективность посева обеих линий при оценке колониеобразования клеток достигала 98 %. По нашему мнению, МТТ-тест, позволяющий оценивать жизнеспособность клеток по интенсивности окислительно-восстановительных процессов в них является косвенной характеристикой и уступает по надежности оценки жизнеспособности клеток по их способности образовывать колонии. Полученные результаты согласуются с данными по оценке числа погибших клеток. При одинаковых дозах гибель клеток, облученных C^{14} почти в 4 раза превышает этот показатель при облуче-

нии рентгеновским излучением. Морфологические изменения, происходящие в клетках на поздних сроках наблюдения, соответствуют апоптотическим, эти изменения наблюдаются во всех экспериментальных группах, но с разной степенью интенсивности.

В то же время, достоверная разница ($p < 0,05$) между количеством образовавшихся колоний в подгруппах появляется в поздние сроки, что требует проведения дополнительных исследований по оптимизации условий облучения для количественной оценке терапевтического эффекта при облучении опухолевых клеток импульсным пучком C^{14} на ускорительном комплексе ТВН-ИТЭФ.

Выводы. Эксперименты, проведенные на двух широко используемых линиях опухолевых клеток млекопитающих, показали перспективность ионов углерода высоких энергий, полученных на ускорителе ТВН-ИТЭФ, для разработки методов адронной терапии на импульсном пучке C^{14} .

*Р.Р. Калугина², С.В. Гамаюнов²,
В.В. Слугарев¹, Н.М. Шахова¹, А.Н. Денисенко²*
**АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФДТ РАКА КОЖИ
С ФОТОСЕНСЕБИЛИЗАТОРОМ ФОТОДИТАЗИН**
¹ГОУ ВПО «НиЖГМА Минздравсоцразвития РФ»,
НиЖний Новгород; rector@gma.nnov.ru
²ГУЗ Нижегородский областной онкологический диспансер, НиЖний Новгород

Введение. Рак кожи остается актуальной проблемой современной онкологии.

Основными методами лечения рака кожи считаются лучевая терапия и оперативное лечение. Одним из современных и наиболее перспективных методов лечения опухолевых заболеваний кожи представляется фотодинамическая терапия.

Материалы и методы. На базе Нижегородского областного онкологического диспансера фотодинамическая терапия рака кожи проводится с августа 2007 года. На сегодняшний день пролечено 53 пациента. Характер распределения пациентов по основным характеристикам опухоли: первичный рак кожи 79 % (42/53 случаев), рецидивный рак кожи 21 % (11/53), единственный очаг 74 % (39/53), множественные очаги 26 % (14/53), базальноклеточный рак 85 % (45/53), плоскоклеточный рак 15 % (8/53). В качестве фотосенсибилизатора использовался препарат фотодитазин, производства фирмы «БЕТА-ГРАНТ». Доза препарата рассчитывалась исходя из массы тела пациента и составила $Me\{\min; \max\} = 0,9\{0,75; 1,15\}$ мг/кг массы тела.

Лазерное облучение выполнялось на установке «Аткус-2» с полупроводниковым лазером, излучающим свет в красном диапазоне с длиной волны 662 нм. Плотность мощности в среднем составила 0,4 Ватт/см², минимальная плотность 0,35 Ватт/см², максимальная – 0,5 Ватт/см².

Доза лазерного облучения составила в среднем 250 Дж/см². Полный ответ после одного сеанса ФДТ отмечен у 89 % (47/53 случаев) пациентов. Частичный ответ, в виде уменьшения опухоли более чем на 50 %, зарегистрирован у 11 % (6/53 случаев) больных.

У 4 пациентов с частичным ответом проведен повторный сеанс ФДТ с увеличением дозы лазерного излучения, у всех четырех достигнут полный ответ.

Двум пациентам с частичным ответом выполнено хирургическое иссечение оставшейся опухоли. В сроки наблюдения от 2 до 21 месяца рецидив возник у 15 % (8/53 случаев) пациентов.

У 5 пациентов проведен повторный сеанс ФДТ с достижением полного ответа. Трем пациентам выполнено хирургическое лечение.

При анализе причин возникновения рецидива установлено: у 2 пациентов отмечено продолжение роста по периферии очага, что вероятно связано с неадекватным определением размеров поля облучения, у 2 пациентов отмечено продолжение роста в центре поля после попытки терапии крупных (> 5мм) очагов, что, возможно, связано с неадекватным выбором дозы. При первичном раке кожи выявлено 10 % рецидивов (4/42 случаев). При рецидивном раке кожи частота рецидива составила 36 % (4/11). При базальноклеточном раке рецидив выявлен у 11 % больных (5/45 случаев), при плоскоклеточном раке у 38 % больных (3/8).

Выводы. Фотодинамическая терапия является удобным, безопасным и эффективным методом лечения рака кожи. Продолжение роста по периферии связано с неадекватным выбором поля облучения, что делает актуальными исследования по неинвазивной диагностике границ опухоли. Рецидив опухоли в рубце, плоскоклеточное строение и выраженный экзофитный или инфильтративный компонент можно рассматривать в качестве предикторов высокого риска рецидива. В этих случаях целесообразно обсуждение обоснованности увеличения дозы облучения и раннего применения комбинированных методов лечения: ФДТ + операция или ФДТ + ЛТ.

Н.А. Канай, М.Б. Славецкая
**СЕЛЕКТИВНАЯ ИНДУКЦИЯ
СИНТЕЗА ЦИТОКИНОВ
ПОД ДЕЙСТВИЕМ НИЗКИХ
КОНЦЕНТРАЦИЙ БЕРБЕРИНА**
НПО «АлексАнн», Московская область

Задачи исследования. Известно, что берберин - алкалоид, содержащийся в растениях семейства барбарисовые, обладает противовоспалительным, противоопухолевым действием (Tai et al., 2003; Wang et al., 2010; Wu et al., 2010). Однако механизм действия этого вещества к настоящему времени остается недостаточно изученным. Задачей проведенного нами исследования являлось изучение цитокининдуцирующей активности берберина в широком диапазоне концентраций в условиях *in vitro*.

Материалы и методы. Для работы были использованы мононуклеарные лейкоциты (МЛ) здоровых доноров. После инкубации в течение 2 суток МЛ в среде, содержащей берберина гидрохлорид в концентрациях 10^{-18} – 10^{-3} М, проводили оценку индукции ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10 и ФНО α с помощью ИФА.

Результаты и выводы. Полученные данные показали, что наиболее выраженное стимулирующее влияние берберин оказывал на продукцию цитокинов Th1 типа. В широком диапазоне концентраций 10^{-16} – 10^{-3} М берберин вызывал значимое увеличение уровня ИЛ-6 (в 1,5–3 раза по сравнению с контролем). Продукция ИЛ-1 β под действием 0,1 мкМ–1 мМ, 1 пМ берберина возрастала в 2,5–3,5 раза и в 1,8 раз под действием 10 пМ и 10 фМ берберина. Достоверное влияние на продукцию ФНО α берберин оказывал только в концентрации 0,1 нМ ($39 \pm 3,1$ пг/мл против $20 \pm 1,6$ пг/мл в контроле). На продукцию противовоспалительных цитокинов берберин оказывал умеренное стимулирующее действие в отдельных концентрациях. Уровень ИЛ-4 возрастал в 1,6 раза при коинкубации МЛ с 100 мкМ берберина ($18 \pm 1,4$ пг/мл против $11 \pm 0,9$ пг/мл в контроле), а уровень ИЛ-10 в 1,3 раза при воздействии 10 мкМ и 10 нМ берберина ($72 \pm 5,8$ пг/мл и $70 \pm 5,6$ пг/мл против $55 \pm 4,4$ пг/мл в контроле соответственно). Коинкуба-

ция МЛ с 0,001–1 мМ берберина приводила к снижению продукции хемокина ИЛ-8 на 50–75 % по сравнению с контролем. Характер этого влияния сохранялся и в диапазоне сверхнизких концентраций 0,001–100 пМ (10^{-15} – 10^{-10} М) исследуемого соединения. Таким образом, берберина гидрохлорид способен селективно изменять продукцию широкого спектра цитокинов МЛ человека, оказывая преимущественное действие на Th1 звено иммунитета. При изучении цитокининдуцирующей активности природного сырья, содержащего берберин (настойка барбариса, содержание берберина 0,45 %), в широком диапазоне концентраций были получены сходные результаты.

*А.Б. Капитанов, З.С. Смирнова,
Л.М. Борисова, М.П. Киселева, В.Д. Соколова*
**ОЦЕНКА
ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО
ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА ТОМАТОЛ
НА МОДЕЛИ ГОРМОНОНЕЗАВИСИМОГО
РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
R3327 MatLyLu КРЫС COPENHAGEN**
РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН, Москва

Рак предстательной железы (РПЖ) – одна из главных причин смертности среди мужчин в странах с развитой экономикой, высоким уровнем жизни и более высокой продолжительностью жизни. В России в структуре онкологической заболеваемости мужского населения РПЖ занимает 3-е место.

В последнее время в этой связи ученые разных стран уделяют большое внимание новой области исследований – фитохимиопрофилактике гиперплазии простаты и РПЖ с помощью соединений из растений, употребляемых в пищу человеком. Наиболее перспективным в этом отношении является ликопин – каротиноид, входящий в состав томатов и некоторых фруктов.

Цель исследования. Оценка профилактического, лечебно-профилактического и терапевтического эффекта препарата Томатол при гормононезависимом раке предстательной железы R3327 MatLyLu крыс линии Copenhagen.

Материалы и методы. Работа выполнена на перевиваемом гормононезависимом раке предстательной железы R3327 MatLyLu на самцах крыс линии Copenhagen. Томатол вводили в виде масляной суспензии с содержанием ликопина 250 мг% и β -каротина 10 мг% в дозе 10 мг/кг *per os* в разных режимах. Критерием терапевтической эффективности служило торможение роста опухоли (ТРО, %). Минимальным критерием активности является торможение роста опухоли ≥ 50 %

Результаты. При изучении профилактического действия Томатола опытная группа получала предварительно до перевивки R3327 MatLyLu препарат в течение 20 дней. В результате получен статистически значимый, но кратковременный противоопухолевый эффект – 60 % ТРО на 7 день опыта. Предварительное введение Томатола в течение 13 дней до перевивки и 20 дней после перевивки R3327 MatLyLu вызывает стойкий терапевтический эффект, который сохраняется в течение 17 дней наблюдения и составляет 58 – 41 % ТРО.

При применении лечебного режима введения Томатола в течение 20 дней наблюдается только кратковременный статистически значимый противоопухолевый эффект на 10 день после перевивки R3327 MatLyLu и составляет 52 % торможения роста опухоли.

Таким образом, в результате проведенных исследований показано, что наиболее эффективным является лечебно-профилактический режим введения Томатола.

Е.Н. Карева¹, А.В. Семейкин¹, И.С. Левина²,
Н.Е. Куликова², Д.А. Тихонов¹

ЦИТОТОКСИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ КАПЕЦИТАБИНА В ПРИСУТСТВИИ ПРЕГНА-D'-ПЕНТАРАНОВ В КУЛЬТУРАХ Т-КЛЕТОЧНОГО ЛЕЙКОЗА ЧЕЛОВЕКА И ТИМОЦИТАХ КРЫСЫ

¹ГОУ ВПО РГМУ, Москва

²УРАН ИОХ им. Н.Д. Зелинского, Москва

Цель исследования. Изучение влияния прегна-D'-пентаранов на цитотоксичность капецитабина в культуре MOLT-4 (Т-клеточный лейкоз человека) и тимоцитах крысы.

Материалы и методы. Клетки MOLT-4 инкубировали в присутствии капецитабина (2 мг/мл) и синтетических лигандов рецепторов прогестерона (прегна-D'-пентараны – аналоги прогестерона, содержащие дополнительный карбоцикл D' в 16 α ,17 α – положениях и различные функциональные группы в стероидном скелете: К-338, К-1030, К-1036, К-1039, К-1044, К-1045, К-1046, К-1047) в конечной концентрации 10⁻⁸М. Воздействие препаратов на клеточный рост определяли микроколориметрическим методом – МТТ-тестом. Полученные результаты 3 серий опытов представляли в виде средних значений оптической плотности. С помощью программного пакета GraphPad Prism5 вычисляли жизнеспособность клеток в % от контроля, принимаемого за 100%.

Результаты. Жизнеспособность культуры клеток MOLT-4 после инкубации с капецитабином составила 90 $\pm$ 6 %, что не удивительно, так как мы имеем дело с пролекарством. Однако, при комбинации цитостатика с пентаранами количество живых клеток в отдельных случаях резко снизилось и составило в случае К-1044 62 $\pm$ 5 % (p $\leq$ 0,01), К-1045 – 58 $\pm$ 9 % (p $\leq$ 0,01), К-338 – 63 $\pm$ 7 % (p $\leq$ 0,05). Остальные соединения в изученной дозе не влияли на цитотоксичность капецитабина в культуре клеток MOLT-4. В другой серии экспериментов в тех же концентрациях ни капецитабин, ни его комбинация с пентаранами не влияли на жизнеспособность здоровых клеток (культура тимоцитов крысы), что может объясняться низким уровнем тимидинфосфорилазы в этом объекте исследования.

Выводы. Таким образом, добавление малых доз прегна-D'-пентаранов (К-1044, К-1045 и К-338.) к противоопухолевому препарату капецитабину может повысить его цитотоксический эффект на опухолевые клетки MOLT-4, при этом не оказывая значимого действия на жизнеспособность здоровых тимоцитов. Следовательно, некоторые синтетические лиганды рецепторов прогестерона, которые сами не являются токсичными, могут быть использованы для химиосенсибилизации опухолевых клеток, что позволит уменьшить дозу основного цитостатика, тем самым снизить число и выраженность побочных эффектов при сохранении противоопухолевого действия. Механизм химиосенсибилизации опухолевых клеток стероидами предстоит изучить.

Работа выполнена в рамках программы развития НИУ ГОУ ВПО РГМУ 2010-2019, ПНР-2, персонализированная медицина.

А.Ф. Киркин, К.Н. Джанджугазян

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К АДАПТИВНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Институт Биологии Рака, Копенгаген, Дания

Раковые клетки экспрессируют ряд опухолеспецифичных белков, отсутствующих в нормальных клетках.

Поэтому иммунная система, в принципе, способна распознавать такие клетки и элиминировать их с помощью цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ). Тем не менее этот процесс подавляется иммуносупрессивными механизмами, опосредованными раковыми клетками. Адоптивная иммунотерапия, т.е. подход, при котором весь процесс иммунизации и экспансии ЦТЛ происходит *in vivo* и пациент получает готовые ЦТЛ, представляет очевидный способ преодоления супрессии со стороны раковой опухоли. Определяющим фактором, как и в целом в клеточной иммунотерапии, является выбор антигенов и способ их доставки в цитоплазму, а не в эндосомы/лизосомы. В идеале выбранные антигены должны быть опухолеспецифичными, множественными и экспрессированными при различных формах злокачественных опухолей. Группа т.н. раково-семенниковых антигенов наилучшим образом отвечает этим требованиям. Нам удалось получить временную обратимую экспрессию этих белков в нормальных антиген-презентирующих клетках, в качестве которых мы использовали поликлонально активированные Т-хелперы.

Использование таких клеток, обработанных ДНК-деметилюющим агентом 5-аза-2'-дезокситидином, для иммунизации *in vitro* аутологичных лимфоцитов приводит к генерации иммунных лимфоцитов, обогащенных по ЦТЛ и натуральным килерам. Важной характеристикой полученных лимфоцитов являлось наличие на их поверхности молекулы, ответственной за рециркуляцию – L-селектина, что указывает на способность этих лимфоцитов выходить из кровотока и достигать опухолевых клеток. Выделенные ЦТЛ были способны убивать широкий спектр раковых клеток, включая клетки рака предстательной железы. В первой фазе преclinical испытаний, проведенных на крови 20 больных раком предстательной железы, нам удалось получить ЦТЛ в большинстве случаев. Клинические испытания с использованием однократного введения цитотоксических лимфоцитов, полученных из крови 13 больных раком предстательной железы, показали полное отсутствие токсичности и, кроме этого, стабилизацию или падение уровня ПСА (простато-специфический антиген) в крови у 9 больных. В ближайшее время клинические испытания будут продолжены с использованием многократного введения лимфоцитов.

А.В. Киселев, Г.А. Гордина, И.Ю. Кубасова,
О.И. Тарасова, Н.А. Щербенева

ПОКАЗАТЕЛИ ПАТЕНТНОЙ АКТИВНОСТИ НАУЧНЫХ СОТРУДНИКОВ РОНЦ ЗА ПЕРИОД С 2006 ПО 2010 ГГ.

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

За 5-летний период научными сотрудниками подготовлено и подано в Роспатент 53 заявки на изобретения. За этот период получено 47 патентов на изобретения и 7 свидетельств на товарные знаки.

Дипломом в номинации «100 лучших изобретений России» Федеральной службой по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам отмечены 7 изобретений, и 6 изобретений включены в базу «Перспективные изобретения».

Наибольший вклад в создании объектов интеллектуальной собственности внесли научные сотрудники НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей и НИИ клинической онкологии.

В настоящее время поддерживаются 46 патентов, из них 18 изобретений разработаны в результате сотрудничества с другими научно-исследовательскими институтами России. Заключены три лицензионных договора.

Объектами изобретений являлись: способы получения противоопухолевых препаратов; способ криоконсервирования пуповинной крови; клеточные линии, используемые для скрининга противоопухолевых препаратов; клеточные линии, используемые для получения противоопухолевых вакцин; способы диагностики и лечения онкологических заболеваний; способ определения индивидуальной чувствительности к химиотерапии солидных опухолей человека; способ иммунофлуоресцентного анализа маркеров множественной лекарственной резистентности в солидных опухолях человека; средства, обладающие противоопухолевым действием, и способы их получения; фармацевтическая композиция, обладающая седативным, анксиолитическим и ноотропным действием; способ получения активированных мононуклеарных лейкоцитов; липосомальные формы фотосенсибилизаторов и способы фотодинамической терапии; средство, обладающее стимулирующим гранулоцитопоз, радиопротекторным и иммуностимулирующим действием; хирургический ретрактор; контрастирующий агент для магнитно-резонансной диагностики опухолей.

М.В. Киселевский¹, А.Н. Хочанский²,
А.Е. Земляков³, О.В. Калюжин²

ВЛИЯНИЕ В-ГЛИКОЗИДОВ МУРАМИЛДИПЕПТИДА НА НК-АКТИВНОСТЬ МОНОНУКЛЕАРОВ ЧЕЛОВЕКА

¹РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

²НИИ морфологии человека РАМН, Москва

³Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь

Ранее показано, что β-гликозидирование увеличивает иммунотропную активность мурамилдипептида (МДП), однако влияние структуры агликона на биологические эффекты гликозидов МДП остается неизученным.

Задачи исследования. Синтезировать 3 β-гликозида МДП с циклической и 4 – с алифатической структурой агликона; изучить их влияние на цитотоксическую активность НК-клеток крови здоровых доноров *in vitro*.

Материалы и методы. Синтезированы β-гептил-, β-децил-, β-додецил-, β-циклогексил-, β-циклооктил-, β-циклодецил-, β-циклододецилгликозиды МДП. Исходные β-D-глюкозаминиды получены оксазолиновым методом.

Мононуклеарные лейкоциты (МЛ) выделяли из гепаринизированной крови доноров центрифугированием в градиенте плотности фикола-урографина. МЛ (10^5 клеток/мл) инкубировали в культуральной среде RPMI 1640, содержащей 2 ммоль L-глутамин, 10 ммоль HEPES, 20 г/мл гентамицина и 10% эмбриональной телячьей сыворотки, с гликозидами МДП (1, 5 и 25 мкг/мл) в течение 24 часов. Затем МЛ отмывали, ресуспендировали и коинкубировали с НК-чувствительной линией клеток К-562 в соотношении 5:1. Через 24 часа измеряли цитотоксичность мононуклеаров в МТТ-тесте.

Результаты. β-гептилгликозид МДП в концентрации 5 мкг/мл усиливал НК-активность мононуклеаров в 1,5 раза и по биологическому действию не уступал МДП (референс-контролю). Гликозиды с циклическими агликонами были менее активными в сравнении с МДП и гликозидами с алифатическими агликонами. Увеличение числа атомов углерода в агликонах от 6-7 до 12 снижало эффективность гликопептидов.

Выводы. Присоединение к гликозидному центру молекулы алифатических структур небольшой длины не снижает биологическое действие МДП *in vitro*, но может усилить его при использовании *in vivo*, в частности в связи с увеличением липофильности и длительности циркуляции в организме. Представляется целесообразным дальнейшие испытания β-гептилгликозида МДП как стимулятора противоопухолевого иммунного ответа.

Н.К. Клаан¹, Р.Б. Пугачева²

ПЕРСПЕКТИВЫ ДИЗАЙНА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА МИШЕНЯХ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ NF-κB МЕТОДОМ ДОКИНГА

¹ВИНИТИ РАН, Москва

²РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Во всем мире растет доля злокачественных новообразований в общей заболеваемости, причем, несмотря на появление все более совершенных методик ранней диагностики, большинство солидных опухолей выявляется на тех стадиях, когда хирургического лечения недостаточно и необходимо проведение лекарственной терапии. Лимфопролиферативные заболевания и гемобласты, как известно, могут быть излечены только лекарственной терапией и создание эффективных лекарственных средств становится приоритетной задачей молекулярной биологии.

В последнее десятилетие в литературе появилось много данных о ключевых метаболических звеньях развития опухолевого процесса и выделены конкретные сайты макромолекул, ответственные за его развитие. Одним из таких метаболических путей является сигнальный путь ядерного фактора каппа В (NF-κB). NF-κB это индуцибельный редоксзависимый фактор транскрипции, который играет решающую роль в выживаемости клеток и регулирует активность более 150 генов, включая циклин D1, c-Myc, MMP-9, ответственных за клеточную пролиферацию и вовлекаемых в такие процессы как опухолевая прогрессия, инвазия, ангиогенез.

NF-κB является ключевым супрессором апоптоза, включая экспрессию белков принадлежащих к семействам IAP, Bcl-2 и ингибирование активации каспазы-3.

Семейство белков NF-κB может рассматриваться как вышерасположенная на сигнальном пути мишень для лекарственного воздействия.

По химической структуре на настоящий момент выделено в клетках человека 5 белков, способных связываться с ДНК: p50, p52, p65(RelA), RelB и c-Rel. Наиболее изучены белковые комплексы гомо- и гетеро- димеров p50 и p65. В обзоре Gr. Packham показано, что наиболее активны гетеродимеры p50/p65 и p52/RelB.

В нативных клетках NF-κB связан ингибитором IκB и локализован в цитоплазме. Его активация может быть индуцирована различными факторами, такими как фактор некроза опухолей альфа, вирусными и бактериальными белками, а также активными формами кислорода и др.

Воздействие активирующего фактора приводит к фосфорилированию IκB специфическими киназами, последующей протеасомной деградации, высвобождению активного димера с дальнейшей транслокацией NF-κB в ядро, что обуславливает стимуляцию экспрессии различных генов.

Конститутивная активация NF-κB наблюдается в большинстве опухолевых клеток и он может быть использован в таргетной терапии опухолей.

Исследование молекулярных механизмов действия различных известных противоопухолевых средств как природных, так и синтетических показало, что большинство из них являются ингибиторами NF- κ B. При многостадийности сигнального пути NF- κ B, для его ингибирования можно воздействовать на различные фазы его активации в цитоплазме (образования транскрипционно активных димеров, высвобождения из комплекса с ингибитором, транслокации в ядро, взаимодействия с соответствующей ДНК в ядре). В результате литературного поиска в интернет-ресурсах можем привести ряд соответствующих примеров такого ингибирования: фенэтиловый эфир кофейной кислоты снижает экспрессию p50, p65, а также ингибирует связывание их гетеродимера с ДНК в клетках рака холангиокарциномы (Francis H.); берберин реализует свое цитотоксическое действие, ингибируя фосфорилирование I κ B, и p65 в клетках рака предстательной железы (Kumar A.P.); сесквитерпеновый лактон партенолид ингибирует активность NF- κ B посредством нарушения деградации I κ B, что проявляется в избирательной цитотоксичности к клеткам острого лейкоза; противоопухолевое соединение бензилизоцианат ингибирует активность NF- κ B посредством нарушения его связывания с ДНК в клетках рака толстой кишки; и т.д.

Таким образом, в настоящее время выявлены конкретные молекулярные мишени, которые могут быть использованы для скрининга и для докинга в процессе разработки лекарственных противоопухолевых соединений.

Т.П. Климова², Т.А. Бабушкина², Ю.В. Гольятин¹, А.А. Липензоль¹, З.С. Клеменкова², М.С. Некрасов², В.Н. Кулаков¹

ИЗУЧЕНИЕ СТРОЕНИЯ ОСНОВНОЙ СУБСТАНЦИИ ВИСИПТАСТА, ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ДЛЯ ФОТОНЗАХВАТНОЙ ТЕРАПИИ ЗНО

¹Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва

²Институт элементарноорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, Москва

³НИИ фотонной лучевой терапии, Москва

Соединения висмута, благодаря многообразию применения в таких областях, как органический синтез и катализ, новые материалы и медицина, находятся в центре внимания исследователей.

Соединения висмута применяют в лечении многих микробиологических инфекций: сифилис, диарея, гастриты и колиты. Они используются также в терапии инфекционных патологий желудочно-кишечного тракта, обусловленных *Helicobacter pylori*. Их отличает высокая эффективность и низкая токсичность. Некоторые соединения висмута обладают противоопухолевой активностью, а препараты с радионуклидами висмута ^{212m}Bi и ^{213m}Bi пригодны в комплексной (радиотерапия в сочетании с цитостатиками) терапии некоторых злокачественных образований. Особый интерес вызывают комплексы висмута с диэтилтриаминопентауксусной кислотой (H₅dtpa), обладающие высокой устойчивостью. Логарифм константы устойчивости комплекса [Bi dtpa]²⁻ в нейтральной среде по данным различных авторов лежит в интервале 31,65–29,29. Однако структура такого комплекса в водном растворе неизвестна. Целью настоящей работы является изучение структуры комплексов висмута с H₅dtpa в водных растворах в диапазоне величин pH 10÷4, что представляет особый интерес в связи с перспективой использования лекарственного средства Висиптаст, основной субстанцией которого является ком-

плекс [Bi dtpa]²⁻ в фотонзахватной терапии злокачественных новообразований. Комплекс Bi с H₅dtpa был получен взаимодействием лиганда с оксидом висмута в кислой водной среде с последующей нейтрализацией реакционной смеси концентрированным водным раствором натрия гидроксида. Полученный раствор имел следующие характеристики: содержание комплекса (BiNa₂dtpa) – 305 ÷ 320 мг/мл; pH раствора – 7,0÷8,0; плотность раствора – 1,18÷1,19 г/мл (20°C); вязкость раствора – 1,48÷1,52 сПз (20 °C). Методами УФ- и ИК-спектроскопии была подтверждена стабильность субстанции в водных растворах в диапазоне величин pH 10÷4. Методами ИК-, ПМР и ¹³C ЯМР установлено, что в водных растворах существует стабильный комплекс висмута с полидентатным лигандом, в котором атом висмута связан с тремя атомами азота и с пятью атомами кислорода молекулы лиганда. Образование комплекса любого металлического иона с многодентатным лигандом всегда представляет собой компромисс между стерическими взаимодействиями в лиганде и стерическими требованиями иона металла, тем более что ион висмута имеет стереохимически активную свободную пару электронов. В растворе в качестве девятого лиганда может быть молекула воды, которая обменивается между раствором и комплексом. В качестве альтернативы можно предположить, что полиэдр иона висмута может иметь как форму с концевым атомом азота в шапочке, так и форму со средним атомом азота или его атомом кислорода в шапочке.

А.С. Козлов¹, А.А. Стрижаков¹,
А.А. Красновский¹, М.А. Грин², А.Ф. Миронов²

ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ КОНЬЮГАТОВ ХЛОРИНА Е6 С БИС-ДИКАРБОЛЛИДОМ КОБАЛЬТА

¹Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва

²Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова, Москва

Задачи исследования. Бор-нейтронозахватная терапия (БНЗТ) является перспективной и динамично развивающимся методом лечения раковых опухолей. Частицы (⁴He²⁺, ⁷Li³⁺), образующиеся в результате столкновения тепловых нейтронов с ядрами бора, эффективно повреждают опухолевые клетки. Одними из эффективных агентов для БНЗТ являются конъюгаты хлоринов с борными кластерами, так как из-за наличия тетрапиррольного фрагмента они хорошо накапливаются в раковых клетках, а большое (10–40) количество атомов бора в кластерах обеспечивает эффективную генерацию активных частиц. Поскольку сами хлорины фотодинамически активны и используются в фотодинамической терапии (ФДТ), цель данного исследования состояла в том, чтобы установить, насколько изменяется фотодинамическая активность хлоринов при конъюгации с борными кластерами.

Материалы и методы. В данной работе были исследованы шесть конъюгатов хлорина е6, различающиеся числом присоединенных борных кластеров (бис-дикарболлид кобальта, содержащий 18 атомов бора) и длиной спейсера.

Соединения были синтезированы в МИТХТ на кафедре ХТБАС им. Н.А. Преображенского. Поскольку во многих случаях главным фотодинамическим агентом является синглетный кислород (СК), то в качестве критерия оценки фотосенсибилизирующей активности исследуемых соединений использовалась величина квантового выхода генерации СК. Исследования проводили в органических средах и водном 0,2 М растворе додецилсульфата натрия.

Квантовый выход генерации СК для обеспечения большей точности определяли двумя спектроскопическими методами: по выцветанию химической ловушки (1,3-дифенилизобензофурана) и по регистрации фотосенсибилизированной ИК-люмино-сенсации кислорода в кинетическом режиме.

Результаты и выводы. Все исследованные соединения эффективно флуоресцируют и генерируют СК как в органических растворителях, так и в водном мицеллярном растворе детергента и плазме крови человека. Величина квантового выхода генерации СК конъюгатами в органических средах практически не зависела от длины спейсера и количества борных кластеров и составляла $0,55 \pm 0,05$, что соответствует квантовому выходу генерации СК свободным хлорином. В водной детергентной системе соединения с двумя борными кластерами генерировали СК вдвое слабее ($0,30 \pm 0,05$), чем соединения с одним кластером ($0,60 \pm 0,07$). Измерения показали, что соединения с двумя борными кластерами флуоресцировали в водной среде также вдвое слабее. Возможно, это свидетельствует о частичной димеризации конъюгатов с двумя борными кластерами. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что присутствие борных кластеров не приводит к потере фотодинамической активности хлориновым фрагментом, поэтому конъюгаты хлорина e_6 с бис-дикарболлидом кобальта потенциально пригодны для применения как в БНЗТ, так и в ФДТ.

В.В. Козлов, И.А. Зонова, М.Л. Филипенко, В.Е. Войцицкий, Л.Ф. Гуляева

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РМЖ

*ГБУЗ НСО Новосибирский областной онкологический диспансер, Новосибирск
Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск
Новосибирский государственный университет, Новосибирск*

Рак молочной железы является одним из наиболее распространенных онкологических заболеваний. Согласно всемирным исследованиям данная патология выявляется в одном из четырех случаев диагностируемого рака. Ключевой задачей современной медицины является ранняя диагностика и выбор адекватных методов лечения в соответствии с индивидуальными особенностями опухоли пациента.

Задачи настоящего исследования – определение уровня экспрессии генов ER α , ER β и ароматазы и проведение мутационного анализа генов BRCA1/2 в опухолевом материале. На данный момент выборку составляют 64 пациента с диагнозом рак молочной железы, с размером опухоли до 5 см (T1-2), без отдаленных метастазов. Из них 36 пациентов не получали неoadъювантную терапию, а 28 пациентов получали предоперационную химиотерапию, 11 из которых в сочетании с лучевой терапией.

Для определения уровня экспрессии таргетных генов применялся метод ПЦР в реальном времени с использованием генов-нормализаторов beta-actin и RPL32. Опухоли присваивался статус эстроген-рецептор-положительной в случае наличия амплификации. В настоящий момент показано распределение фенотипов опухолей в зависимости от эстрогенового статуса: ER α^+ /ER β^+ 31%, ER α^+ /ER β^- 28%, ER α^- /ER β^+ 24%. Для дополнительной оценки применяли иммуногистохимический метод с использованием специфических антител к эстрогеновым рецепторам.

Мутационный анализ гена BRCA1/2 проводился методом HRM PCR с последующим секвенированием продуктов амплификации. Проведено скрининговое исследование с целью выявления мутаций в генах BRCA 1/2 39 пациентам. В ходе исследования выявлена одна мутация **5382insC** (BRCA1) у пациента с семейной формой рака. В дальнейшем планируется провести анализ прогностической значимости выявленных факторов в течение и развитие заболевания, а также продолжить сбор и анализ клинического материала.

Работа поддержана грантом ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009-2013 г», НК-543П, №П600

Е.Ю. Колдаева,¹ Е.Ю. Григорьева¹, А.С. Масько¹, К.Ю. Жижин², Н.Т. Кузнецов² ТОКСИКОЛОГИЯ МОДИФИЦИРОВАННЫХ МАКРОГЕТЕРОЦИКЛОВ – СОЕДИНЕНИЙ ДЛЯ БИНАРНОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

¹РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

²Институт общей и неорганической химии им.Н.С. Курнакова РАН, Москва

Использование бинарной лучевой терапии в онкологической клинике, в первую очередь, зависит от создания туморотропных соединений, обеспечивающих оптимальную концентрацию и микрораспределение в клетках злокачественных опухолей, оставаясь в них в течение необходимого для облучения времени. При этом соединение не должно быть токсично: ЛД₅₀ не ниже 25 мг/кг массы животного, МПД не ниже 10 мг/кг массы животного. Изучены токсикологические характеристики двух фталоцианин-производных соединений на основе Со (I) и Al (II); порфириноподобного орто-карборана (III) и клатрохелата (IV).

Материалы и методы. Исследование проводили на мышах С57В1/6 массой 20–22 г. Соединения вводили внутрибрюшинно в 0,2 мл ДМСО (III) и физиологического раствора (I, II, IV). Испытывали дозы (в мг бора на 1 кг массы тела) в интервале от 15 до 200 мг/кг массы тела. Наблюдение за животными осуществляли в течение одного месяца. Павших мышей вскрывали, оценивали выраженные изменения кожных покровов и внутренних органов. Выживших животных взвешивали, оценивали общее состояние и поведение. Определяли значения максимальной переносимой дозы (МПД), абсолютно смертельной дозы (LD100) и по методу Кербера рассчитывали среднесмертельную дозу (LD50).

Результаты и выводы. Токсичность соединений I и II была одинаковой. Максимально переносимые дозы составили 75 мг бора на 1 кг массы тела. При введении соединений в дозах от 50 до 200 мг бора на 1 кг массы тела у мышей развивалась диарея различной степени тяжести, в зависимости от введенной дозы. Гибель наступала в течение 1–3 ч после введения соединений. При вскрытии наблюдали окрашивание кожных покровов, слизистых и серозных оболочек, внутренних органов, жира, крови и мочи в сине-зеленый цвет различной степени интенсивности, в зависимости от введенной дозы. Слизистая кишечника во всех отделах проявляла признаки острого воспаления. Выжившие животные имели признаки хронической интоксикации. Максимально переносимая доза МПД соединений составляла 75 мг бора на 1 кг массы тела. Абсолютно смертельная доза составляла 200 мг бора на 1 кг массы тела животного, рассчитанное значение средней смертельной дозы ЛД₅₀ составило 150 мкг бора на 1 грамм массы тела.

Введение летальных доз соединений III и IV вызвало в течение первых 30 минут после введения сопорозное состояние, атаксию. При введении 125 мг/кг массы тела смерть наступала в течение 6 ч после введения препарата. При вскрытии не обнаруживали визуально выраженных изменений внутренних органов. На основании картины поведения и состояния мышей можно говорить о нейротоксичности соединений III и IV. Рассчитанное значение LD50 для соединения III составляло 137,5, а для соединения IV – 155,5 мг бора на 1 кг массы тела.

Таким образом, все четыре соединения могут быть использованы для нейтронозахватной терапии опухолей с учетом существующей токсичности.

В.В. Кометова, Р.М. Хайруллин

СООТНОШЕНИЕ ТКАНЕВЫХ КОМПОНЕНТОВ ОПУХОЛИ КАК МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ КРИТЕРИЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ И АДЬЮВАНТНОЙ ХТ РМЖ

Ульяновский государственный университет, Ульяновск

Низкие результаты химиотерапии опухолей могут быть обусловлены не только феноменом множественной лекарственной устойчивости, но и биодоступностью препаратов. Это связано с особенностями взаимоотношения клеток паренхимы и стромы опухоли, меняющимися по мере её роста и (или) в процессе лечения. При этом мишенью химиотерапевтических воздействий могут быть не только клетки опухоли, но и отдельные структуры экстрацеллюлярного матрикса. Целью исследования было определение морфологических критериев соотношения тканевых компонентов рака молочной железы (РМЖ) для возможного мониторинга неоадьювантной и адьювантной терапии. Материалом послужил операционный биопсийный материал 120 больных инфильтрирующим протоковым и дольковым РМЖ в возрасте 44–78 лет (в среднем 59,4±8,7), не получавших неоадьювантной химиотерапии, с оперативным вмешательством в объеме радикальной мастэктомии или секторальной резекции молочной железы. Исследование гистологических препаратов производилось с помощью морфометрической компьютерной программы по девяти параметрам эпителиально-стромальных соотношений опухолевого узла. В ходе исследования установлено, что у больных с благоприятным прогнозом, проживших более 5 лет после установления диагноза, показатели эпителиально-стромальных соотношений были равны единице или близки к этому значению.

В опухолях с III степенью злокачественности из-за незрелости волокон, пролиферации фибробластов и других клеточных элементов стромы, новообразования волокнистых структур эпителиально-стромальное соотношение было существенно больше единицы. Исследование препаратов части умерших больных выявил выраженный фиброз и склероз стромы (скиррозные раки), при этом как в центральной части, так и в зоне врастания опухоли обнаруживались утолщенные пучки зрелых коллагеновых волокон, эпителиально-стромальное соотношение было меньше единицы.

Таким образом, проведенное исследование показывает возможное прогностическое значение морфологических критериев эпителиально-стромальных соотношений РМЖ, чем более их отклонение от единицы в ту или иную сторону, тем менее благоприятен прогноз заболевания.

Изучение взаимосвязи эпителиально-стромального соотношения с другими морфологическими параметрами инфильтрирующего РМЖ позволит уточнить показания к назначению неоадьювантной адьювантной ХТ.

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

ВЛИЯНИЕ ГИДРОКСАМОВОЙ КИСЛОТЫ НА ЛЕКАРСТВЕННО-РЕЗИСТЕНТНУЮ ОПУХОЛЬ

ИПХФ РАН, Черноголовка

МЛУ злокачественных опухолей является одним из серьезнейших препятствий для успешной противоопухолевой ХТ. Поиск путей ее преодоления является приоритетной задачей современной онкологии. В данной работе на штамме лейкемии Р388 с фенотипом и генотипом множественной лекарственной устойчивости исследована противоопухолевая эффективность циклической гидроксамовой кислоты на основе глицина, содержащей цитостатический фрагмент ($C_{13}H_{17}N_3O_2Cl_2$).

Критерием эффективности служило число излеченных (проживших 60 суток после трансплантации) животных. Для сравнения были использованы традиционные цитостатики метотрексат и цисплатин. Дозы препаратов составляли для гидроксамовой кислоты 117 мг/кг, для метотрексата 2 мг/кг, для цисплатина 6 мг/кг. Результаты экспериментов показали, что эффективность гидроксамовой кислоты на лекарственно-резистентной опухоли достаточно высокая – 67 % животных излечены (выживают 60 суток). Возможно, что этот эффект частично связан с действием на опухолевые клетки оксида азота, способного вызывать апоптоз.

Показано, что активность метотрексата на этой модели отсутствует. Опухоль сохраняет некоторую чувствительность к цисплатину (33 % излеченных).

В работе впервые показано, что циклическая гидроксамовая кислота на основе глицина, содержащая цитостатический фрагмент, проявляет эффективность на лекарственно-резистентной опухоли, вызывая излечение 67 % животных с резистентной лейкемией Р388 по сравнению с традиционными цитостатиками метотрексатом (0 %) и цисплатином (33 %). На чувствительной опухоли введение цисплатина приводит к 100% излечиванию животных с лейкемией Р388.

Следует отметить также, что изучаемая гидроксамовая кислота повышает эффективность цисплатина, вводимого в очень низких, нетоксических дозах животным с исходной (не резистентной) лейкемией Р388. При введении одного цисплатина выживших животных нет, при его комбинации с гидроксамовой кислотой выживает 50 % животных.

*О.И. Коняева¹, Н.Ю. Кульбачевская¹,
Н.П. Ермакова¹, И.Б. Меркулова¹, Т.В. Абрамова¹,
А.Л. Николаев², А.А. Сергеев¹, В.М. Бухман¹*

ТОКСИЧНОСТЬ СОНОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ С ТЕРАФТАЛОМ В СОЧЕТАНИИ С ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИМИ КОМБИНАЦИЯМИ НА ЖИВОТНЫХ

¹РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

²МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Целесообразность сочетания сонодинамической терапии (СДТ) с ХТ основана на усилении цитотоксических эффектов различных химических соединений при локальном ультразвуковом (УЗ) воздействии на опухоль. В эксперименте установлено, что соносенситизатор терафтал (ТФ) повышает избирательность повреждающего действия УЗ на опухоль.

Цель исследования. Доклиническое токсикологическое изучение на крысах и собаках сочетания комбинаций ДПП (Доксорубин + Цисплатин) и ЦМФ (Циклофосфамид + Метотрексат + 5-Фторурацил) с СДТ (ТФ + УЗ).

Материалы и методы. Работа проведена на 14 собаках породы английский бигл и 230 здоровых неинбредных крысах. Препараты, входящие в комбинации ДЦП и ЦМФ, применяли однократно внутривенно последовательно. ТФ вводили однократно внутривенно через 40 минут после введения цитостатиков. Через 40 минут после введения ТФ наружную поверхность бедра собак и хвосты крыс подвергались воздействию УЗ в ранее отобранном режиме с помощью установки «УСДТ». Оценивали системное и локальное воздействие УЗ.

Результаты. УЗ не вызывает местно-раздражающего действия, не оказывает влияния на поведенческие реакции, функциональное состояние органов и систем организма животных и не вызывает морфологических изменений в органах и тканях. УЗ и ТФ не увеличивают токсического действия ДЦП и ЦМФ на печень, поджелудочную железу, сердечно-сосудистую систему животных, не усугубляют морфологические изменения, характерные для действия изученных комбинаций и не влияют на обратимость этих изменений во внутренних органах животных. Однако УЗ и ТФ незначительно увеличивают токсическое действие ДЦП на функциональное состояние почек собак, вызывая на 7–14 с. обратимое увеличение уровня мочевины и креатинина в 1,5 раза. Гематологическая токсичность, вызванная действием ЦМФ, незначительно усиливается и пролонгируется при добавлении как ТФ или УЗ, так и при совместном их использовании.

Заключение. СДТ с ТФ несколько увеличивает лимитирующую токсичность изученных комбинаций. Это увеличение носило обратимый характер. Сочетание СДТ с химиотерапевтическими комбинациями ДЦП и ЦМФ рекомендовано для клинических испытаний.

Л.И. Короленкова

ГЕНОМ ВПЧ – ОСНОВНОЙ МАРКЕР ПРЕДРАКА И РАННИХ ФОРМ РШМ. КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ВПЧ-ТЕСТИРОВАНИЯ

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Цели исследования. Изучить информативность ВПЧ-теста HC2 (Digene/Qiagen теста) в сравнении с качественной ПЦР для диагностики тяжелых эпителиальных повреждений у больных с аномальными цервикальными мазками и определить значение ВПЧ-тестирования в оценке эффективности конизации, прогнозировании течения заболевания и наблюдении за больными CIN3/CIS и микроинвазивным раком шейки матки.

Материалы и методы. В поликлинику РОНЦ С 2006 по 2010 обратились 747 больных с аномальными изменениями в мазках от ASCUS и более. Для установления диагноза выполнялось ВПЧ-тестирование методом ПЦР и HC2, кольпоскопия и морфологическое исследование материалов биопсии, петлевой эксцизии и соскоба цервикального канала. В дальнейшем 416 больным CIN тяжелой степени и микроинвазивным раком выполнена конизация шейки матки с последующей отсроченной оценкой эффективности лечения с помощью вирусологического (ВПЧ-тестирование методами ПЦР и HC2 до и через три месяца после конизации), цитологического и кольпоскопического методов.

Результаты. CIN разной степени и микрокарцинома были обнаружены у 560 из 747 больных, в том числе у 416 больных – преинвазивный (CIN 3/CIS) и микроинвазивный рак. Все 416 больных

тяжелыми CIN и микрокарциномой были ВПЧ-позитивны, при этом ложноотрицательный результат ПЦР при положительном HC2 отмечен у трех больных. Сенсиitivность ВПЧ-теста в отношении CIN 3/CIS и микрокарциномы составила 100 %. Вирусную нагрузку более 100 относительных световых единиц имели 64,2 % больных и 50 % пациенток – более 300 единиц. ВПЧ-тест был отрицательным у 14 из 47 больных с CIN I (2,5 % от всех больных), восемь из которых имели уреаплазмоз. Из 187 больных, у которых CIN не подтвердилась, у 99 (52,9 %) ПЦР ВПЧ ВКР был положительным, однако по данным HC2 ВПЧ был обнаружен лишь у 12 из них. Отрицательный HC2 у остальных 87 больных с положительным ПЦР можно объяснить уже произошедшей элиминацией вируса – ВПЧ-инфекция носила транзитный характер и не сопровождалась клинически значимыми последствиями. ПЦР ВПЧ предсказала отсутствие эпителиальных повреждений в 47 %, а HC2 – в 94 % случаев, то есть информативность HC2 была вдвое выше. После конизации у 93 % больных HC2-тест стал негативным, больные кольпоскопически и цитологически в дальнейшем не имели признаков неизлеченности или рецидива. У 29 больных (7 %) ВПЧ-тест остался позитивным при снижении вирусной нагрузки, при этом аномальные кольпоскопические и цитологические картины отсутствовали. При дальнейшем наблюдении в течение года у 19 больных отмечен рост вирусной нагрузки: у 11 – до 300 единиц и у 8 – от 300 до 1500 единиц. У первой группы в мазках наблюдался дискариоз и койлоцитоз, в соскобе канала у пяти больных диагностирован CIN 1. Во второй группе через шесть месяцев после повышения вирусной нагрузки выявлены повреждения в мазках. У пятерых больных с HSIL выполнена реконизация, обнаружен рецидив CIN3, без инвазии. Из трех больных с LSIL и ASCUS у двух выявлен CIN 1-2, у одной – койлоцитоз.

Выводы. ВПЧ-тест HC2 высоко сенситивен при CIN3/CIS и микроинвазивном раке. ПЦР ВПЧ менее информативна, так как положительна не только при эпителиальных повреждениях, но также при продуктивной и разрешившейся ВПЧ-инфекции. HC2 определяет только клинически значимые концентрации вируса, что позволяет исключить больных с разрешившейся инфекцией. Отрицательный результат обоих методов позволяет практически исключить CIN. После конизации, в условиях низкой информативности кольпоскопии и недостаточной чувствительности цитологического метода, ВПЧ-тест HC2 – надежный способ исключения неизлеченности и рецидива, учитывая 100% предсказательную ценность отрицательного результата. Отрицательный тест HC2 является показателем адекватности эксцизии и может быть рекомендован для наблюдения за больными после органосохраняющих операций по поводу CIN и микрокарциномы. Прогрессивный рост ВПЧ-теста после конизации может свидетельствовать о рецидиве CIN до появления изменений в мазках.

О.В. Короткова, Т.Н. Заботина, И.В. Самойленко, Л.В. Демидов, З.Г. Кадагидзе

ИММУНОФЕНОТИП ЛИМФОЦИТОВ БОЛЬНЫХ ДИССЕМИНИРОВАННОЙ МЕЛАНОМОЙ В ПРОЦЕССЕ ПХТ

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Цель исследования. Изучить взаимосвязь иммунологического фенотипа лимфоцитов больных диссеминированной меланомой с эффективностью проводимой ХТ.

Материалы и методы. Исследовали иммунофенотип лимфоцитов периферической крови 41 больного диссеминированной меланомой кожи до и после 2-х курсов ПХТ по схеме CVD (цисплатин 20 мг/м² в 1–4 дни, винбластин 2,0 мг/м² в 1–4 дни и дакарбазин 800 мг/м² в 1 день, цикл 28 дней). Использовали МКА CD3, CD4, CD8, CD16, CD56, CD19, CD25, CD127, CD45, конъюгированные FITC, PE, PE-Cy5, PC5, Per-CP (Beckman Coulter, BD Biosciences). Многопараметровый количественный проточно-цитометрический анализ проводили с применением стратегии последовательного «гейтирования» на цитометре FACSCalibur (BD Biosciences).

Результаты. Исследовали популяционную структуру лимфоцитов больных до ПХТ. Через 2 недели после лечения оценили клиническую эффективность проводимого лечения. Полный ответ/стабилизация были выявлены у 43,3 % (1 группа), а у 56,7 % больных зарегистрирована прогрессия заболевания (2 группа).

Анализ пула CD45⁺ лимфоцитов (T+B+NK-клетки) не выявил линейных нарушений в исследуемых группах больных. В структуре T-клеточного звена иммунитета у больных с прогрессией заболевания (2 группа) уровень CD8⁺CD45⁺ лимфоцитов оказался выше еще до начала лечения и возрастал на фоне проводимой ПХТ (1-я группа: до лечения – 28,7±2,0%, после – 28±1,8%; 2-я группа: до лечения – 35,6±4,6%, после – 40,6±3,4%).

Так же выявлено, что у прогрессирующих больных доля цитотоксических CD3⁺CD8⁺CD45⁺ T-лимфоцитов в структуре CD8⁺CD45⁺ T-клеток составляла до лечения 78 %, после 77 %, в то время как среди пациентов с положительной динамикой болезни 69 % и 68 % соответственно.

Структурный анализ CD16⁺CD56⁺CD45⁺ лимфоцитов показал, что при сопоставимых показателях общего пула эффекторных клеток в исследуемых группах, доля истинных NK-клеток (CD3⁺CD16⁺CD56⁺CD45⁺) составила у больных с положительной динамикой 77,7 % до лечения и 75,3 % после лечения, а в группе с прогрессией – 53,1 % и 52 % соответственно (p<0,02). При этом нами было обнаружено, что у больных 2-й группы популяция NK-лимфоцитов с коэкспрессией CD3 антигена (NK T-клетки) превышала в 2 раза показатели больных с клиническим ответом (11,2±3,0 %; 4,9±0,5 %).

Заключение. Таким образом, показана информативная значимость структурного анализа иммунокомпетентных клеток больных диссеминированной меланомой в процессе ПХТ.

*О.В. Корытов¹, О.Р. Мельников¹,
Н.Д. Олтаржевская², М.А. Коровина²*
**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОМПОЗИЦИОННОГО
ЛЕЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА КОЛЕГЕЛЬ
ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ИНТРА-
И РАННИХ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ
КРОВОТЕЧЕНИЙ В ОНКОПРОКТОЛОГИИ**

¹Санкт-Петербургский Государственный Медицинский Университет им. И.П. Павлова

²ООО «Колетекс», Санкт-Петербург

Задачи исследования. Оценка эффективности применения специальной гидрогелевой композиции для снижения рисков и объемов интра- и послеоперационных кровотечений.

Материалы и методы. Под нашим наблюдением был 21 пациент раком прямой кишки в возрасте от 21 до 87 лет, из них 11 мужчин и 10 женщин стадиях T2-4N0-3M0-1. Из 21 пациента 11 больным выполнена низкая передняя резекция прямой кишки, 5 больным – операция по типу Гартмана и 5 – брюшно-промеж-

ностная экстирпация прямой кишки. С целью борьбы с кровотечениями нами разработана специальная гидрогелевая композиция «Колегель», в основе которой – природный биополимер альгинат натрия (натриевая соль альгиновой кислоты), а в состав входят ε-аминокапроновая кислота (5 %), лидокаин (до 2 %).

Результаты и выводы. Нами использовались 2 варианта лечения пациентов с опухолями прямой кишки в зависимости от варианта исполнения основного этапа операции:

1. Способ лечения ран (низкая передняя резекция, операция Гартмана) промежности в виде введения в освобожденное пресакральное пространство материала гидрогелевого «Колегель» на основе альгината натрия с добавлением терапевтической дозы ε-аминокапроновой кислоты и лидокаина до полного заполнения полости.
2. Способ, применяемый при открытом ведении промежностной раны после брюшно-промежностных экстирпаций, когда гидрогелевый материал предварительно наносится на тампоны, которые размещаются в полости малого таза, а свободное пространство между брюшиной и тампонами заполняется гидрогелевым материалом.

Предлагаемые способы позволили сократить потребности в использовании инъекционных системных гемостатиков, компонентов крови, уменьшить аллергологическую нагрузку на организм пациента и общую стоимость лечения.

Отмечена тенденция к сокращению сроков заживления ран на 2–3 дня, соответственно снижается время нахождения в стационаре, время начала антикоагуляционной терапии сокращено на 6 часов в среднем при сокращении рисков тромбозмобилических осложнений.

Применение анестетика лидокаина местно, адресно, так же позволило сократить расход НПВС и наркотических анальгетиков при и после извлечения тампонов промежностной раны, так как выражено снижена чувствительность в первые, наиболее болезненные 3–4 часа после проведения процедуры.

Е.А. Котова, С.Г. Козеев, И.И. Краснюк, Н.А. Оборотова
**УСТАНОВЛЕНИЕ
КАЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА ЛИПИДОВ
В ЛИПОСОМАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТАХ
МЕТОДОМ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ**
ГОУ ВПО ПМГМУ им. И.М. Сеченова, Москва
РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

В силу сложности и разнообразия состава липидов, входящих в состав липосомальных лекарственных препаратов, невозможно выделить какой-либо один метод, который приводил бы к полному разделению и идентификации каждого липидного компонента смеси. Метод тонкослойной хроматографии (ТСХ) является одним из наиболее эффективных методов разделения липидных смесей. К достоинствам ТСХ можно отнести простоту и доступность этого метода, его достаточно высокую чувствительность.

Задачи исследования. Разделить и идентифицировать липидные компоненты в липосомальных лекарственных препаратах.

Материалы и методы. Качественный состав липидов анализировали методом тонкослойной хроматографии на пластинках «Silufol» в следующих системах растворителей: 1) бутанол – уксусная кислота – вода (6:3:2); 2) хлороформ – этанол – уксусная кислота – вода (80:20:14:6); 3) изопропанол – ацетон – диэтиловый эфир – вода (7:7:2:4); хлороформ – этанол (20:1). В качестве детектора использовали: пары йода и 0,05% подкисленный раствор хлорида железа (III).

Леофильновысушенный липосомальный препарат растворяли в хлороформе до достижения концентрации липидов 20мг/мл. Приготовление стандартных растворов: 20мг липида (раствор 1. Фосфатидилхолин (PC), раствор 2. Холестерин (Chol)) растворяли в 1 мл хлороформа.

На линию старта хроматографической пластинки наносили 10 мкл раствора препарата и два стандартных раствора. После подсушивания на воздухе пластинку помещали в предварительно насыщенную вышеперечисленной смесью растворителей камеру и хроматографировали до достижения расстоянием фронта расстоянием 12 см.

Результаты и выводы. В зависимости от системы вещества по-разному «ходят» по пластинке. Удачно выбрав систему, можно добиться разделения хроматографических пятен в тонком слое сорбента.

В ходе исследования в образцах липосомальных препаратов установлены следующие значения R_f , соответствующие стандартным растворам: 1) PC – 0,08; Chol – 0,9. 2) PC – 0,08; Chol – на старте. 3) PC – на старте; Chol – 1,0. 4) PC – 0,04; Chol – 0,48.

Таким образом, для установления качественного состава липидов в липосомальных препаратах рекомендуется проводить ТСХ в 1-й и 4-й системах растворителей.

*Н.Р. Кузнецова¹, Е.В. Степанова²,
И.А. Болдырев¹, Н.В. Бовин¹, Е.Л. Водовозова¹*
**ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ ЛИПОСОМЫ
С ЛИГАНДОМ СЕЛЕКТИНОВ
СИЛИЛ-ЛЬЮИС X НАЦЕЛЕННЫ
НА МИКРОСОСУДЫ ОПУХОЛИ**

¹Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Задачи исследования. Нами показано на модели рака молочной железы мышей, что противоопухолевый эффект липосом с липофильным пролекарством D,L-мелфалана резко усиливается при их оснащении тетрасахаридным лигандом селективных сиалил Льюис X ($SiaLe^X$) (Vodovozova et al., 2000). Селективные, углеводсвязывающие адгезионные белки, экспрессируются на активированных лейкоцитах, тромбоцитах и эндотелиальных клетках; вовлечены в развитие воспалительного ответа, метастазирования и др. (патологических) физиологических процессов. В данной работе исследована локализация $SiaLe^X$ -липосом *in vivo* на модели карциномы легкого Льюис.

Материалы и методы. Экструзионные 100-нм-липосомы (Kuznetsova et al., 2009) состава фосфатидилхолин/фосфатидилинозит/1,2-диолеилглицерид мелфалана (Mph-DG) конъюгат $SiaLe^X$, 8:1:1:0,2 (мол.), мелфалан (7,0 мг/кг) или физраствор вводили в/в (*v. caudalis*) на 3 и 7 дни после трансплантации опухоли мышам гибридов первого поколения BDF1 (C57B/6×DBA/2) (n=10 в группе). Часть липосом содержала 0,5 мол. % BODIPY-меченого фосфатидилхолина. Гистологическое исследование срезов опухолей, окрашенных гематоксилином и эозином, проводили на 4 и 9 дни (после одно- и двукратного введения препаратов, n=3 в группе) и по окончании эксперимента (24 день).

Количество микрососудов в опухоли оценивали на срезах опухолей стандартным иммуногистохимическим методом с использованием анти-CD31 антител как описано ранее (Khromova et al., 2009).

Результаты. Лечение $SiaLe^X$ /Mph-DG-липосомами приводило к снижению количества микрососудов в опухоли по сравнению с остальными группами

примерно на 36 %. На следующий день после введения адресных липосом наблюдалось специфическое повреждение опухолевых сосудов: дилатация, полнокровие, некрозы. При введении флуоресцентномеченых липосом наблюдалась кокализация $SiaLe^X$ /Mph-DG-липосом и маркера эндотелия CD31, тогда как Mph-DG-липосомы накапливались во внеклеточном пространстве около опухолевых сосудов.

Выводы. В отсутствие адресного лиганда цитотоксические липосомы накапливаются в опухолевой ткани за счет экстравазации. Введение $SiaLe^X$ -конъюгата в состав липосом обеспечивает их активный транспорт к эндотелию опухолевых сосудов и последующий антиангиогенный эффект.

Работа поддержана грантом РФФИ № 10-04-01021.

*А.В. Ланцова, А.П. Полозкова, О.Л. Орлова,
Н.Ф. Куненкова, Н.А. Оборотова*

**РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ
ПОЛУЧЕНИЯ НАНОСТРУКТУРИРОВАННОЙ
ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ОКАСЕНСА
РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва**

Октасенс (окта-4,5-децилтио-окта-3,6-хлорфта-лоцианина цинка) – активная фармацевтическая субстанция, синтезированная в ФГУП «Государственный научный центр «НИОПИК», предназначена для фотодинамической терапии.

Цель исследования. Разработка лекарственной формы для внутривенного введения фотосенсибилизатора на основе октасенса.

Материалы и методы. В работе использованы весы аналитические Sartorius 2405 (Sartorius AG, Германия), термостатируемая водяная баня SkyLine TW-2 (ELMI, Латвия), шприцевая фильтрующая система Millipore SWINNEX-25 (Millipore, США), оснащенная фильтрами Pall («Палл Евразия», Россия) с диаметром пор 0,22 мкм, наносайзер Submicron Particle Sizer NICOMP-CW380 (Particle Sizing Systems, США).

Результаты. Для введения октасенса в организм предложена водно-эмульсионная мицеллярная дисперсия, которая получена двумя методами. *Первый метод:* для получения дисперсии использовали 4% водный раствор Эмукола-268. Раствор эмукола нагревали в вытяжном шкафу на водяной бане при температуре 65–70 °С, при энергичном барботировании азотом и перемешивании при помощи магнитной мешалки. Навеску субстанции октасенса растворяли в хлороформе.

Полученный раствор октасенса добавляли малыми порциями в барботируемый водно-эмульсионный раствор до полного удаления следов хлороформа, затем нагрев и барботирование прекращали, охлаждали дисперсию до комнатной температуры. *Второй метод:* эмукол (2 мг/мл) и субстанцию октасенса растворяли в хлороформе. Хлороформные растворы смешивали, раствор переносили в круглодонную колбу и упаривали досуха на ротонном испарителе с образованием пленки.

Полученную пленку ресуспендировали деионизованной водой. После чего дисперсии октасенса полученные двумя методами, фильтровали под давлением с использованием фильтров Pall с диаметром пор 0,22 мкм.

Распределение по размерам водно-эмульсионной мицеллярной дисперсии октасенса определяли с использованием лазерного корреляционного спектрометра.

Выводы. Лекарственная форма октасенса, полученная первым методом, отличалась от лекарственной формы, полученной вторым методом, более крупным размером частиц. В настоящее время проводится изучение химико-фармацевтических параметров данных моделей лекарственной формы октасенса для исследования возможности хранения мицеллярных дисперсий.

Е.В. Лукашева¹, А.А. Ефремова¹, Е.М. Трещалина², А.Ю. Аринбасарова³, А.Г. Меденцев³, Т.Т. Березов¹

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ОКСИДАЗ L-АМИНОКИСЛОТ

¹РУДН, Москва

²РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

³НИИБФМ им. Г.К. Скрябина РАН, Пушкино

Оксидазы L-аминокислот (LAAO) – это ферменты, катализирующие окислительное дезаминирование L-аминокислот с образованием пероксида водорода, α-кетокислоты и иона аммония. LAAO широко представлены в природе. У млекопитающих LAAO выделены из печени, почек, мозга, секрета молочных желез (у мышей) и из полиморфноядерных лейкоцитов. Цитотоксический эффект LAAO был продемонстрирован на различных линиях опухолевых клеток человека (гемобластазах Jurkat, K562, HL60, EL4, глиоме C8166, карциномах шейки матки HeLa и яичников A2780, раке молочной железы SKBR3) и мышей АОЭ и S180. Реализация этого эффекта объясняется: 1) образованием в ходе ферментативной реакции H_2O_2 и других активных форм кислорода (АФК); 2) истощением запасов свободных (в том числе незаменимых) аминокислот в связи с их окислением; 3) взаимодействием фермента с поверхностью клетки.

В присутствии LAAO образуются АФК, способные в зависимости от концентрации вызывать повреждение ДНК и гибель клетки (некроз/апоптоз). Разрушающая H_2O_2 каталаза существенно снижает цитотоксичность LAAO. LAAO увеличивают экспрессию белков p53, Fas и FasL, а также c-Jun/JNK важных не только для запуска запрограммированной гибели, но и для регуляции пролиферации и дифференцировки клетки. Так, Fas или APO-1 (поверхностный белок, рецептор ФНО) индуцирует гибель клеток путем связывания с Fas-лигандом (FasL). C-Jun влияет на пролиферацию, дифференцировку и апоптоз, а c-Jun-NH₂ терминальная протеинкиназа (JNK) регулирует эти процессы путем фосфорилирования c-Jun. В апоптозе, индуцированном LAAO, участвуют каспазы 8 и 9, что говорит о вовлеченности в эти события митохондриального пути. Действие АФК приводит к изменению трансмембранного потенциала митохондрий, при этом в отсутствие выраженного энергодиффицита и сохранности генетического аппарата гибель клетки реализуется путем апоптоза, а глубокая гипоксия и выраженные повреждения ДНК инициируют некробиоз. При развитии апоптоза АФК изменяют условия взаимодействия кальция с кальмодулином и способствуют нарастанию цитоплазматической и внутриядерной активности кальция (а при блокаде гена Bcl-2 – росту его внутриклеточной концентрации). Способность LAAO связываться с поверхностью клеток и создавать высокие локальные концентрации H_2O_2 усиливает их токсический эффект. Кроме того, LAAO влияют на проницаемость клеточных стенок для некоторых метаболитов. Действие LAAO через механизмы истощения запасов аминокислот приводит к подавлению синтеза белка. Удаление под действием LAAO L-лизина, необходимого для синтеза гистоновых белков, приводит к торможению синтеза ДНК, РНК и блокированию перехода клеток из S в G₂/M фазу.

Таким образом, LAAO способны различными путями вызывать цитотоксическое действие, уничтожая эссенциальные факторы роста L-аминокислоты, например, фенилаланин, лейцин или лизин, с образованием АФК. Это принципиально отличает их от L-аспарагиназы, которая катализирует гидролиз заменимого L-аспарагина, синтез которого нарушен в лейкозных клетках, а также от классических противоопухолевых цитостатиков. Такое своеобразие молекулярного механизма цитотоксического действия оксидаз L-аминокислот открывает возможность включения их в существующие схемы комбинированной химиотерапии без высокого риска повышения токсичности.

М.Е. Мамаева, А.В. Алясова, В.В. Новиков

СОДЕРЖАНИЕ РАСТВОРИМОГО АНТИГЕНА CD38 У БОЛЬНЫХ С ОНКОГИНЕКОЛОГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

Приволжский окружной медицинский центр, Нижний Новгород

Нижегородская государственная медицинская академия, Нижегородский государственный университет

Цель исследования. Охарактеризовать содержание растворимого антигена CD38 у больных раком тела, шейки матки, а также у больных миомой.

Материалы и методы. Под наблюдением находилось 94 больных опухолями женских половых органов в возрасте 30–57 лет. Все пациентки впервые поступили в стационар и ранее не получали какого-либо противоопухолевого лечения. По результатам гистологического анализа послеоперационного материала у 53 больных (56,4 %) была диагностирована доброкачественная опухоль матки, у 34 женщин (36,2 %) – рак тела матки, у 7 (7,4 %) – рак шейки матки. Сывороточное содержание растворимого CD38 антигена определяли, используя поликлональные антитела против антигенов мнуклеарных клеток периферической крови и конъюгированные с пероксидазой моноклональные антитела ИКО-20 против CD38 антигена. Результаты были представлены в условных единицах (U/ml). Контрольную группу составили 30 клинически здоровых женщин соответствующего возраста. Статистический анализ проводился с использованием пакета программ Statistica 6.0.

Результаты. В контрольной группе уровень растворимого CD38 антигена составил 182,56±21,07 U/ml. У больных доброкачественными опухолями сывороточная концентрация этого белка соответствовала 387,54±28,06 U/ml, превышая уровень здоровых лиц в 2,1 раза (p<0,0005). У больных раком тела матки уровень CD38 антигена до операции составил 250,05±18,92 U/ml и превышал уровень контрольной группы в 1,4 раза (p=0,02). Однако содержание белка оказалось в 1,5 раза ниже, чем у лиц с доброкачественными опухолями (p<0,0005). В группе женщин, страдающих раком шейки матки, содержание белка в сыворотке крови соответствовало 1006,67±8,87 U/ml, превышая уровень CD38 антигена у здоровых женщин в 5,5 раза (p<0,00005). У данной группы пациенток концентрация CD38 антигена в сыворотке крови была значимо выше, чем у больных доброкачественными опухолями матки или раком тела матки (в 2,6 раза по сравнению с доброкачественными опухолями, p<0,00005; и в 4,0 раза по сравнению с раком тела матки, p<0,00005).

Выводы. Таким образом, развитие опухолей женских половых органов сопровождается повышением сывороточных концентраций растворимых CD38 антигена. Наиболее выраженные отклонения этого показателя от нормальных значений наблюдаются у больных раком шейки матки.

Л.В. Манзюк, Е.В. Артамонова,
Е.Ф. Сатирова, Е.С. Алаторцева
**КОМБИНАЦИЯ ВИНОРЕЛБИНА
С ФТОРАФУРОМ В ХТ РМЖ**
РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Задачи исследования. Изучить эффективность и токсичность комбинации винорелбина с фторафуром в химиотерапии местнораспространенного и метастатического РМЖ.

Материалы и методы. 18 больных в возрасте от 33 до 75 лет ($54,9 \pm 1,4$) с местнораспространенным и метастатическим РМЖ получили лечение по схеме: винорелбин – 25 мг/м² в/в кап. 1 и 8 дни + фторафур – по 1200 мг внутрь с 1 по 14-й дни каждые 3 недели. 14 пациенткам лечение проводилось в качестве первой линии и 4 – в качестве второй – третьей линии. Всего проведено 77 курсов, в среднем – 4,2 (1–8). При местнораспространенном РМЖ (n=7) Т3N2M0 стадия – 2 больных, Т4N0-2M0 – 5.

При метастатическом РМЖ (n=11) первичная опухоль не удалена у 6, метастазы в лимфоузлы и мягкие ткани выявлены у 2, в кости – у 4, в плевру и легкие – у 1, в печень – у 4, сочетанное поражение отмечено в 5 случаях (две зоны – 4 и три зоны – 1 больная). Рецепторный статус: РЭ+ 7/18 случаев, РП+ 5/18, рецепторы неизвестны у 2; HER-2/neu 3+ у 2 больных (11,1 %), HER-2/neu отрицательный – у 14 (77,8 %), HER-2/neu неизвестен – у 2 (11,1 %). «Трижды-негативный» РМЖ – 6 пациенток (33,3 %).

Результаты. Общая эффективность лечения оценена у 17 из 18 больных и составила 41,2 %, включая 1 полную (5,9 %) и 6 частичных (35,3 %) регрессий; стабилизация – 41,2 % (7), прогрессирование – 17,6 % (3). Контроль роста опухоли составил – 82,4 %. Эффекты были зарегистрированы при использовании режима в качестве первой линии терапии, включая одну полную регрессию при местнораспространенном РМЖ. При метастатическом РМЖ (n=11) отмечено 27,3 % (3/11) частичных регрессий продолжительностью 12 нед., 16 нед. и 20 нед., 63,6 % (7/11) стабилизаций длительностью от 24 до 48 нед. (медиана – $28,0 \pm 0,17$ нед.) и 1 прогрессирование (9,1 %).

«Трижды-негативный» РМЖ оказался также чувствителен к лечению (2/6 – ЧР, 2/6 – стабилизация и 2/6 – прогрессирование). Токсичность комбинации винорелбина с фторафуром умеренная, нейтропения 1–2 ст. отмечена в 12/77 (15,6 %) циклов, 3 ст. – в 1/77 циклов (1,3 %); боли в эпигастрии 1–2 ст. – у 6/18 (16,6 %) больных, 3 ст. – у 5/18 (27,8 %) больных; периферические флебиты 1–2 ст. – у 3/18 (16,6 %) больных и 3 ст. – у 1/18 (5,5 %) больных.

Заключение. Результаты исследования позволяют рекомендовать комбинацию винорелбина с фторафуром для лечения местнораспространенного и метастатического РМЖ как эффективный и малотоксичный режим.

А.А. Маркова¹, Н.В. Плявник¹, А.А. Штиль²
**ИССЛЕДОВАНИЕ
НОВЫХ ПЕРСПЕКТИВНЫХ
ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ АГЕНТОВ
КЛАССА АЛКИЛЬНЫХ КАТИОННЫХ
ГЛИЦЕРОЛИПИДОВ**

¹МИТХТ им. М.В. Ломоносова, Москва

²РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Соединения класса алкильных катионных глицеролипидов – бесфосфорные аналоги эдельфозина, важные биологически активные соединения, в

частности, вызывающие гибель опухолевых клеток различных линий.

Задачи исследования. Цитотоксичность изучаемых соединений зависит от структуры полярного домена, способа его присоединения и длины алкильных заместителей. Наши исследования включают определение связи «структура-эффект» путем создания модификационных рядов алкильных катионных глицеролипидов и выявления противоопухолевой активности их компонентов через изучение механизма их действия.

Материалы и методы. Методом МТТ-теста на клеточных линиях K562 (лейкоз человека) и НСТ116 (рак прямой кишки человека) определялась цитотоксичность пяти синтезированных липидов:

rac-N-{4-[(2-этоксигидрокси-3-октадецилокси)проп-1-илоксикарбонил]бутил}-N-метилпиперидиний-бромид (I),

rac-N-{4-[(2-этоксигидрокси-3-октадецилокси)проп-1-илоксикарбонил]бутил}-N-метил-4-гидроксипиперидиниййодид (II),

rac-N-{4-[(2-этоксигидрокси-3-октадецилокси)проп-1-илоксикарбонил]бутил}-N-метилморфолинйодид (III),

rac-N-{4-[(2-этоксигидрокси-3-октадецилокси)проп-1-илоксикарбонил]бутил}пиперидиний-бромид (IV),

rac-N-{4-[(2-этоксигидрокси-3-октадецилокси)проп-1-илоксикарбонил]бутил}-N'-этилмидазолиййодид (V).

Методом ПЦР изучались изменения клеточного цикла. Исследовалась способность липидов ингибировать топоизомеразу I.

Результаты и выводы. Изучены механизмы гибели клеток лейкоза человека и клеток рака прямой кишки человека при действии липидов с различными гетероциклическими «головками» I–V.

Новые липиды оказались токсичными для исследуемых клеток. Наиболее активное соединение V вызывало остановку клеточного цикла в фазе G1 и апоптоз. Установлена способность V ингибировать топоизомеразу I в бесклеточной системе.

Приведенные данные обосновывают высокую перспективность новых алкильных катионных глицеролипидов для разработки противоопухолевых препаратов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 10-03-00995-а) и ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (гос. контракт № П 1340).

И.Б. Меркулова, Н.П. Маркова, И.С. Голубева,
Т.В. Абрамова, Е.И. Михеевич, Л.И. Смирнова
**ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ МЫШЕЙ
С ПЕРЕВИВАЕМЫМИ ОПУХОЛЯМИ
ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ЦИФЕТРЕЛИНА**
РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

В РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН проводится доклиническое изучение нового противоопухолевого препарата Цифетрелина – пентапептида, который является аналогом гормона соматостатина гипоталамуса. В эксперименте показана высокая противоопухолевая активность цифетрелина.

Цель работы. Гистологическое исследование внутренних органов мышей с перевиваемыми опухолями при пероральном применении цифетрелина в терапевтических дозах и разных режимах.

Материалы и методы. В опытах использованы мыши линий BALB/C, гибриды первого поколения BDF, массой 18–21 г и перевиваемые модели опухолевого роста: аденокарцинома толстого кишечника Акатол, меланомы В16. Лечение начинали через 48 ч после перевивки. Цифетрелин вводили перорально в 1% крахмальном клейстере. Контролем служили мыши с перевитыми опухолями, получившие адекватный объем 1% крахмального клейстера. Мышам с меланомой В16 Цифетрелин вводили в пятикратном ежедневном режиме в разовых дозах 1 и 10 мг/кг (суммарно: 5 и 50 мг/кг). Мышам с аденокарциномой толстого кишечника Акатол препарат вводили в тех же дозах 1 и 10 мг/кг в течение 5 и 10 дней (суммарно: 5, 50 и 10,100 мг/кг соответственно), а также применяли ежедневно пятикратно или десятикратно в разовых дозах 1 и 10 мг/кг (суммарно: 5, 50 и 10,100 мг/кг соответственно), а также 2 курса по 5 дней через 24 часа с интервалом между курсами 7 дней (суммарно: 10 и 100 мг/кг). Мышей умерщвляли усыплением диэтиловым эфиром на 2 или 6 сутки после окончания применения препарата. На вскрытии брали участки внутренних органов, фиксировали в 10% формалине и подвергали общепринятой гистологической обработке; срезы, окрашенные гематоксилином и эозином изучали под световым микроскопом.

Результаты. У большинства мышей с перевиваемыми опухолями, меланомой В16 и Акатолом, Цифетрелин в терапевтических дозах (суммарные дозы 5, 50, 10, 20, 50, 100 мг/кг) не вызывал изменений во внутренних органах на 2 и 6 сутки после окончания его применения. У отдельных же животных с меланомой В16 и Акатолом отмечены несильно выраженные дистрофические изменения в сердце, почках и надпочечниках; отмечена очаговая десквамация покровного эпителия в желудочно-кишечном тракте. У мышей с опухолью Акатол, кроме того, выявлены дистрофические изменения в печени. Причем более четкие изменения отмечены при десятикратном и двух пятикратных курсах применения Цифетрелина в суммарных дозах 10 и 100 мг/кг. Не отмечено четкой зависимости морфологических изменений от величины суммарной дозы Цифетрелина и от режима его применения, что возможно связано с особенностями рецепторного механизма действия Цифетрелина или влияния опухоли.

Выводы. Цифетрелин в терапевтических дозах не оказывал повреждающего действия на внутренние органы у большинства мышей с перевиваемыми опухолями. Однако у единичных мышей отмечены несильно выраженные изменения дистрофического или десквамативного характера в сердце, печени, почках, надпочечниках и желудочно-кишечном тракте.

И.Б. Меркулова¹, Т.В. Абрамова¹, О.И. Коняева¹, Н.Ю. Кульбачевская¹, Н.П. Ермакова¹, А.Л. Николаев², В.М. Бухман¹

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ СОБАК И КРЫС ПРИ ДОКЛИНИЧЕСКОМ ИССЛЕДОВАНИИ ТОКСИЧНОСТИ (БЕЗОПАСНОСТИ) СДТ С ТЕРАФТАЛОМ В СОЧЕТАНИИ С ХТ КОМБИНАЦИЯМИ ДЦП И СМФ

¹РОИЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

²МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Патоморфологические исследования – необходимый этап в доклиническом исследовании безопасности как новых противоопухолевых препаратов, так и новых методов противоопухолевой терапии. Сонодинамическая терапия (СДТ) при локальном ультразвуковом воздействии (УЗ) усиливает цитотоксический эффект

химиотерапии на опухоль, а в опытах на животных соносенсибилизатор терафтал (ТФ) повышает избирательность повреждающего действия на опухоль.

Цель исследования. Доклиническая оценка патоморфологических особенностей внутренних органов животных при сочетанном применении СДТ (УЗ) с ТФ и комбинаций – ДЦП (Доксорубин + Цисплатин) у собак и СМФ (Циклофосфамид + Метотрексат + 5-фторурацил) у крыс.

Материалы и методы. Использовано 14 собак породы английский бигль и 70 неинбредных крыс-самцов. Препараты, входящие в комбинации ДЦП и СМФ, вводили однократно внутривенно последовательно в терапевтических дозах. Через 40 мин после введения ТФ поверхность бедра у собак и хвост у крыс подвергали УЗ-воздействию с помощью установки «УСДТ». Собак умерщвляли методом усыпления тиопенталом натрия, крыс – диэтиловым эфиром на 3–7 и 30–60 сутки. На аутопсии брали участки внутренних органов и головного мозга. Материал подвергали общепринятой гистологической обработке, препараты изучали в окраске гематоксилином и эозином.

Результаты. Через 7 суток после однократного воздействия УЗ морфологические особенности внутренних органов и головного мозга собак не отличались от контроля. При применении ДЦП + ТФ + УЗ отмечены умеренные, но обратимые к 60 суткам деструктивно-дистрофические, воспалительные или атрофические морфологические изменения различной степени в легких, сердце, печени, почках, селезенке, лимфатических узлах, не отличавшиеся от изменений, наблюдавшихся в тот же срок после применения ДЦП, ДЦП+ТФ и ДЦП+УЗ. Через 3 суток у крыс после однократного воздействия комбинации ЦМФ, ЦМФ + УЗ и ЦМФ + ТФ + УЗ наблюдались сходные деструктивно-дистрофические изменения в почках, печени, сердце, надпочечниках, атрофические изменения в селезенке, лимфатических узлах, тимусе, семенниках, воспалительные изменения в легких и тонком кишечнике у большинства крыс. Причем применение ТФ + УЗ с ЦМФ несколько усиливало атрофические изменения в селезенке и воспалительные изменения в легких, вызывали ослабление морфологических изменений в сердце и печени отдельных крыс. К 30 суткам у части крыс во всех группах полного восстановления ранних изменений не наблюдалось в почках, тимусе, семенниках.

Выводы. СДТ с ТФ не усиливает повреждающего действия ДЦП на внутренние органы и головного мозг собак и крыс. СДТ с ТФ у крыс может несколько менять характер изменений, вызванный ДЦП в некоторых органах у части крыс.

О.В. Минаева, Н.А. Пятаев, С.Н. Щукин, П.И. Скопин, Е.Ю. Коровина

АНТИБЛАСТОМНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОНЬЮГАТОВ «ДОКСОРУБИЦИН-ДНК» И «ЦИСПЛАТИН-ДНК» ПРИ ХОЛАНГИОЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ КАРЦИНОМЕ РС-1 У КРЫС

ГОУВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», Саранск

Задачи исследования. Изучить антибластомную эффективность конъюгатов «доксорубин-ДНК» и «цисплатин-ДНК» при холангиоцеллюлярной карциноме РС-1 у крыс в эксперименте

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 50 белых нелинейных крысах обоего пола с перевитой карциномой РС-1. Животные были разделены на группы по 10 особей в каждой; 1-я группа (контроль) лечения не получала.

Во 2-й группе проводилась терапия доксорубицином в дозе 1 мг/кг; в 3-й – конъюгатом «доксорубицин–ДНК» в дозе 2 мг/кг; в 4-й группе – терапия цисплатином в дозе 15 мг/м², в 5-й группе – конъюгатом «цисплатин–ДНК» 15 мг/м² в пересчете на цисплатин. Конъюгаты цитостатиков с ДНК (препарат «Деринат») были получены путем совместной инкубации препаратов при 4 °С с добавлением человеческого альбумина и последующего диализа смеси фосфатным буфером. Химиотерапию в указанных группах начинали на 21 день после перевивки опухоли. Инъекции проводились внутривенно 1 раз в 5 дней (7 инъекций на курс). Через 35 дней проводили эвтаназию. Оценивали массу первичной опухоли, летальность в процессе лечения (токсичность) и выраженность побочных эффектов химиотерапии.

Результаты. В группах, получавших терапию доксорубицином и конъюгатом «доксорубицин–ДНК», размеры опухоли также были достоверно ниже таковых в контрольной группе и не различались между собой. Летальность в 2-й и 3-й группах не превышала контрольных значений, а частота развития кардиопатии и язвенного поражения кишечника при введении конъюгата «доксорубицин–ДНК» достоверно ниже, чем при введении чистого доксорубицина (на 20 и 30 % соответственно).

У животных, получавших терапию конъюгатом «цисплатин–деринат», размеры первичной опухоли были ниже, чем в контроле, но достоверно выше, чем при терапии чистым цисплатином. При оценке летальности и побочных эффектов химиотерапии на фоне лечения конъюгированной с ДНК формой цисплатина. Установлено снижение летальности (на 50 % по сравнению с группой «чистого» цисплатина) и частоты токсической нефро- и гепатопатии (на 40 и 60 % соответственно).

Выводы. Конъюгированная с ДНК форма доксорубицина по эффективности не уступает «чистому» доксорубицину, но реже приводит к развитию эрозивно-язвенного поражения кишечника и кардиопатии, а также вызывает менее выраженную миелосупрессию. Конъюгат цисплатина с ДНК обладает меньшей антибластомной активностью, чем «чистый» цисплатин, но реже вызывает токсические эффекты и летальные исходы в процессе ХТ.

Т.В. Наседкина¹, М.А. Емельянова¹,
Ф.А. Амосенко^{2,3}, Т.П. Казубская³, Л.Н. Любченко³

АНАЛИЗ СОМАТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ ПРИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОЧИПОВ

¹Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

²Медико-генетический научный центр РАМН, Москва

³РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

На эффективность таргетных препаратов, подавляющих активность рецептора эпидермального фактора роста EGFR, существенно влияет наличие соматических мутаций в генах *KRAS*, *EGFR* и *BRAF*. Знание мутационного статуса этих генов у конкретного пациента позволяет подобрать индивидуальное лечение, увеличивая его эффективность и уменьшая риск развития токсических реакций. Сложность детекции соматических мутаций в биоптате опухоли заключается в резком количественном преобладании последовательностей дикого типа над мутантными.

Цель исследования. Разработка эффективного подхода к определению соматических мутаций в генах *KRAS*, *EGFR* и *BRAF* в образцах опухоли.

Материалы и методы. В качестве клинического материала использованы опухоли поджелудочной железы 45 пациентов, а также опухоли 60 пациентов с колоректальным раком. Для определения мутаций в гене *KRAS* разработан метод, представляющий собой комбинацию мультиплексной ПЦР с гибридизацией на биочипе. Биочип позволяет определять наиболее часто встречающиеся мутации в 12, 13 и 61 кодонах гена *KRAS*. Для подавления амплификации последовательностей дикого типа в реакционную смесь вводили специфические LNA-олигонуклеотиды. Продукты амплификации гибридизовали с олигонуклеотидными зондами, иммобилизованными на поверхности биочипа.

Результаты. При опухолях поджелудочной железы мутации в 12 и 61 кодонах гена *KRAS* были обнаружены в 34 (75,6 %) образцах из 45, наиболее частой была мутация 12 Gly>Asp (47 %). При опухолях толстой кишки мутации были обнаружены в 36 (60 %) образцах из 60, также наиболее часто встречалась мутация 12 Gly>Asp (38 %). Метод позволяет определять мутации при наличии 2 % опухолевых клеток в образце. В качестве референс-метода использовали ПДРФ-анализ, секвенирование и ПЦР в реальном времени. Также разработан биочип для определения мутаций в 19 экзоне, 719, 790 и 858 кодонах гена *EGFR* и в 600 кодоне гена *BRAF*.

Заключение. Разработанные биочипы позволяют с высокой чувствительностью и достоверностью определять соматические мутации в опухолевых клетках и могут быть использованы в клинической диагностике.

Р.Г. Никитина¹, В.А. Ольшевская²,
А.А. Штиль³, В.В. Дрожжина¹, Ю.С. Родина¹

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФДТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОПУХОЛИ М-1 С НОВЫМ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОМ

¹ФГБУ МРНЦ Минздрава России, Москва

²ИНЭОС им. Несмеянова РАН, Москва

³РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Задача исследования. Изучение эффективности фотодинамической терапии (ФДТ) в зависимости от дозы фотосенсибилизатора (ФС), энергии и плотности лазерного излучения при лечении экспериментальной опухоли саркомы М-1.

Материалы и методы. Исследования были проведены на беспородных крысах массой 180–200 г. В качестве опухолевой модели использовали саркому М-1. Животные были разделены на группы в соответствии с дозой ФС, плотностью энергии и мощностью лазерного излучения. Контролем к опытным животным служили нелеченные животные – опухоленосители того же срока перевивки, что и опытные. Опухоль перевивали под кожу в область бедра в виде кусочков, размером 0,1×0,1 мм. В опыт крыс брали на 8–10 день, когда пальпируемая опухоль достигала в диаметре 0,7–1,5 см. В качестве ФС использовали борированный хлорин, который вводили внутривенно в дозах 2,5; 5,0 и 10,0 мг/кг, после чего через 1,5 часа опухоль облучали лазером.

Источником лазерного излучения служил полупроводниковый лазерный аппарат «Аткус -2» с длиной волны излучения 661±1 нм. Диаметр светового пятна для крыс составлял 1,5 см., плотность энергии падающего излучения составляла 150 и 300 Дж/см², плотность мощности 0,25 и 0,42 Вт/см². Облучение проводили под общим наркозом (2,5% раствор тиопентала натрия).

Эффективность ФДТ оценивали по коэффициенту абсолютного прироста опухоли (К); по проценту полной регрессии опухоли (ПР%) и торможению роста опухоли (ТРО%) в течение 21 суток.

Результаты. При использовании для ФДТ борированного хлорина в дозах 10,0; 5,0 и 2,5 мг/кг, при плотностях мощности 0,25 и 0,42 Вт/см² и энергии лазерного излучения 150 и 300 Дж/см² реакция опухоли на лечение оказалась однотипной. На протяжении всего срока наблюдения у всех животных была полная регрессия опухоли. В то время как в соответствующем контроле имел место прогрессирующий рост опухоли. Гибели опытных животных не было.

Выводы. Таким образом, для ФДТ могут использоваться эффективно доза борированного хлорина 2,5 мг/кг (что в пересчете на человека составляет 0,4 мг/кг), а также плотность мощности – 0,25 Вт/см² и плотность энергии лазерного излучения 150 Дж/см² – минимальные из изученных условий проводимой терапии.

С.В. Новикова, А.В. Алясова, Д.В. Новиков

АНАЛИЗ ВСТРЕЧАЕМОСТИ АЛЬТЕРНАТИВНЫХ ФОРМ мРНК ГЕНА IL-2A В КЛЕТКАХ ОПУХОЛЕВЫХ ОЧАГОВ БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

*Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород
Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород*

Задачи исследования. Значение альфа-цепи рецептора интерлейкина-2 (IL-2RA) для гемопоэтической системы хорошо известно. Однако, потенциальная роль, которую IL-2A может играть в неопластических процессах, во многом не раскрыта.

Установлено, что высокая экспрессия IL-2RA в опухолевых клетках приводит к повышению пролиферативной, трансформирующей активности, устойчивости к лекарственным препаратам и коррелирует с плохим прогнозом для пациента. Для матричной РНК гена IL-2RA показано существование нескольких альтернативных форм. Две из них – форма с делецией экзона 4 (CD25Exo4Del) и экзонов 4 и 5 (CD25Exo4-5Del) – кодируют рецептор, не способный связывать лиганд.

Целью настоящей работы явилось исследование встречаемости альтернативных форм матричной РНК гена IL-2RA в клетках опухолевых очагов больных колоректальным раком.

Материалы и методы. Исследовали 49 образцов клеток опухолевых очагов больных колоректальным раком. Характер экспрессии гена IL-2RA определяли методом ОТ-ПЦР с использованием разработанных авторами праймеров, специфичных к местам соединения экзонов мРНК.

Результаты и выводы. Присутствие CD25Exo4Del формы мРНК гена IL-2RA в клетках опухолевых очагов больных колоректальным раком обнаружено в 92 % случаев (45/49), CD25Exo4-5Del формы – в 76 % (37/49), причем клетки опухолевых очагов 69 % больных (34/49) содержали обе формы, в одном образце описанных форм не обнаружено.

CD25Exo4Del и CD25Exo4-5Del формы мРНК гена IL-2RA встречались на всех четырех стадиях рака. Статистически значимых различий во встречаемости данных форм мРНК между группами больных в возрасте 45–64 и 65–84 года, а также между группами мужчин и женщин не найдено.

Однако каждая форма мРНК встречалась чаще у женщин (96 % (24/25) – для CD25Exo4Del, 84 % (21/25) – для CD25Exo4-5Del), чем у мужчин (88 % (21/24) – для CD25Exo4Del, 67 % (16/24) – для CD25Exo4-5Del).

Вариации спектра альтернативных форм мРНК гена IL-2RA в клетках опухолевых очагов больных колоректальным раком могут являться отражением механизмов активации и ингибирования пролиферации раковых клеток.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 г.г.

Е.В. Одинцова¹, Т.А. Федотчева¹, Е.А. Седов¹, В.М. Ржесников², Н.Л. Шимановский¹

ВЛИЯНИЕ БУТЕРОЛА И ДРУГИХ СИНТЕТИЧЕСКИХ АНАЛОГОВ ПРОГЕСТЕРОНА НА ЭКСПРЕССИЮ мРНК MRP1 БЕЛКА И Р-ГЛИКОПРОТЕИНА В КЛЕТКАХ HeLa И MCF-7

*¹ГОУ ВПО РГМУ, Москва
²ЭНЦ и ОНЦ РАМН, Москва*

Задачи исследования. Изучение влияния гестагенов на экспрессию мРНК MRP1 белка (Multidrug Resistance Protein 1) и Р-гликопротеина – транспортеров ксенобиотиков ABC1 семейства – в культурах HeLa (эпителиоидный рак шейки матки человека) и MCF-7 (рак молочной железы человека).

Материалы и методы. Клетки HeLa и MCF-7 инкубировали в присутствии гестагенов: бутерола (нового синтетического гестагена, обладающего цитостатической и химиосенсибилизирующей активностью), медроксипрогестерона ацетата, ацетомепрегенола и прогестерона в конечной концентрации 10⁻⁵М в течение 2, 4, 6, 8 и 10 суток. Уровень экспрессии мРНК MRP1 белка и Р-гликопротеина в клетках, подвергшихся воздействию гестагенов, относительно контрольных образцов (клеток, инкубированных в тех же условиях, но без гестагенов) оценивалось методом РЕАЛ-ТАЙМ ПЦР с интеркалятором SYBR Green I. Относительная количественная оценка уровня экспрессии мРНК была произведена с помощью «математической модели анализа количественной оценки экспрессии методом РТ-ПЦР» (Pfaffl M. W. et al., 2000).

Результаты. В культуре HeLa под влиянием прогестерона увеличивается уровень экспрессии мРНК Р-гликопротеина и MRP1 белка на всех сроках инкубации, а под влиянием бутерола наблюдалось снижение экспрессии на поздних сроках инкубации (6–10 суток) соответственно MRP1 гена в 29 раз и MDR1 гена (Р-гликопротеина) в 18 раз.

В культуре MCF-7 под влиянием бутерола уровень экспрессии мРНК MRP1 гена снижал на протяжении всего срока инкубации (максимально на 6 сутки в 12 раз), а экспрессия мРНК Р-гликопротеина подавлялась только на поздних сроках инкубации (максимально в 4 раза на 10 сутки). Прогестерон и медроксипрогестерона ацетат также подавляли экспрессию мРНК MRP1 белка и Р-гликопротеина, начиная с 4-го дня инкубации.

Выводы. В более ранних исследованиях нами было показано, что бутерол усиливает цитостатическое действие доксорубицина в клетках HeLa и MCF-7 на 6–8 сутки инкубации, то есть проявляет химиосенсибилизирующее действие.

Возможно, одним из механизмов химиосенсибилизации является наблюдаемое снижение экспрессии мРНК Р-гликопротеина и MRP1 белка под влиянием бутерола на 6–8 сутки.

Работа выполнена в рамках программы развития НИУ ГОУ ВПО РГМУ 2010-2019, ПНР-2, персонализированная медицина.

О.Э. Оксина¹, С.В. Рылеев¹, А.П. Каплун²,
У.У. Ахсянов¹, В.И. Швец²

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ НАНОЭМУЛЬСИЙ И МИЦЕЛЛЯРНЫХ РАСТВОРОВ

¹ЗАО «Лаборатория Низар-А», Москва

²Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова, Москва

Нанотехнология и, в первую очередь использование наночастиц как системы доставки лекарственных и диагностических средств, безусловно, открывает громадные перспективы для медицинской диагностики, лечения и профилактики онкологических заболеваний. В настоящее время разработкой наносистем для применения в онкологии занимаются более 150 фирм, и более 20 нанотехнологических продуктов используются в клинической практике.

Важнейшими характеристиками наночастиц являются: размер, ξ - потенциал, эффективность включения лекарственного средства внутрь частицы и параметры высвобождения этого средства. Бюрократы от науки считают наночастицами коллоидные частицы с размерами менее 100 нм. Однако в последнее время в научном сообществе все чаще высказываются соображения о нецелесообразности установления жестких ограничений по размеру частиц. В частности, в условиях грантов на создание наносистем для диагностики и лечения рака, объявленным в конце 2010 г. NIH и NCI США верхней границей размеров указывается 300 нм.

Известно, что основными преимуществами наносистем доставки лекарственных средств являются: возможность применения плохо растворимых в воде веществ; обеспечение дозированного и пролонгированного действия препарата; возможность направленной доставки; минимизация побочных системных эффектов; возможность одновременного введения двух и более препаратов для обеспечения синергетического действия и подавления возможной резистентности.

Наиболее часто применяемыми в настоящее время переносчиками лекарственных субстанций являются липосомы, наноэмульсии, конъюгаты полимер-лекарство, наносuspensions; полимерные мицеллы, дендримеры и неорганические наночастицы только исследуются как возможные носители.

Наноэмульсии и мицеллярные растворы отличаются от многих других тем, что среди методов их получения есть очень малозатратные, что может существенно продвинуть их к реальным нанопрепаратам.

В последнее время пристальное внимание уделяется средствам трансдермального переноса лекарственных средств, и в том числе противоопухолевых препаратов.

Трансдермальная доставка лекарственных средств имеет ряд преимуществ: комфортность применения; уменьшение необходимой дозы из-за снижения потерь препарата, связанных с метаболизмом; снижение частоты назначения за счет доставки необходимой дозы препарата в более продолжительный период времени; обеспечение постоянной концентрации препарата в крови, без колебаний концентрации и связанных с этим неблагоприятных реакций; возможность немедленного прекращения лечения при развитии неблагоприятных реакций.

Авторами разработан и изучен целый ряд наноструктурированных средств трансдермального переноса (НТП), предназначенных для реализации т.н. технологии 3T® (Transdermal Transfer Technology).

Технология 3T®, как мы ее позиционируем – это совокупность средств и методов, позволяющих облегчить проникновение биологически активных веществ (БАВ), в т. ч. лекарственных средств, через роговой слой (РС) и обеспечить их проникновение в глубокие слои кожи и в ряде случаев оказывать системное влияние на организм в целом. Приведены примеры эффективности противоопухолевых препаратов (тамоксифен, кверцетин, дакарбазин) на основе наноэмульсий и мицеллярных растворов.

Н.Д. Олтаржевская¹, М.А. Коровина¹,

Г.Е. Кричевский²

РАЗРАБОТКА ГИДРОГЕЛЕВЫХ КОМПОЗИЦИЙ ДЛЯ НАПРАВЛЕННОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ ХИМИОЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

¹ООО «НПО Текстильпрогресс», Москва

²ГОУ ВПО «РосЗИТЛП», Москва

В данной работе представлены созданные отечественными специалистами и выпущенные на рынок изделия медицинского назначения на гидрогелевой основе (торговое название «Колегель»®), обеспечивающие направленный транспорт импрегнированных в них лекарственных препаратов к очагам поражения, расположенным в полостях (ротовая полость, гинекологическая, проктологическая области).

В основе гидрогелевого материала – биополимеры-полисахариды альгинат натрия (на основе водорослей), производные хитозана и их смеси. Выбранные биополимеры цитосовместимы, стимулируют ранозаживление, обладают гемостатическими свойствами и т.д.

В полимерную композицию вводятся различные препараты (в зависимости от области применения), например, радиосенсибилизатор метронидазол, иммуномодулятор деринат, антиоксидант прополис, оказывающий противовоспалительное действие димексид и, дополнительно, анестетик лидокаин и др. Реологические свойства лечебной композиции, изученные детально (вязкость, прочность структуры, тиксотропность и т.д.), позволили создать лечебный материал, обладающий нужными по медицинским показаниям свойствами. Его можно вводить в полости с помощью различных устройств (шприца, микроклизмы и т.д.).

За счет подобранных реологических свойств (в частности, тиксотропии) гидрогель безболезнен при введении под давлением и не вытекает из полости. Вопрос концентрации лекарства в гидрогеле связан с достижением его необходимой по медицинским показаниям концентрации в очаге поражения.

Так, для достижения радиосенсибилизирующего эффекта концентрация метронидазола в опухолевых тканях должна иметь значения ~ 200 мг/г (проф. С.Л. Дарьлова).

Наши исследования, проведенные совместно с РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН (проф. Ю.А. Барсуков, проф. С.И. Ткачев), показали, что при концентрации этого препарата в геле 9%, определенной вязкости и времени экспозиции 5 ч при ректальном введении при лечении опухолей прямой кишки, достигается нужная концентрация метронидазола, что приводит к повышению эффективности лучевой терапии, увеличению сроков выживаемости, снижению метастазирования и уменьшению токсичности за счет минимального (по сравнению с опухолью) накопления препарата в моче и крови.

Подобная направленная доставка препаратов, в частности дерината и прополиса, хорошо зарекомендовала себя при необходимости лечения лучевых реакций и для предотвращения их возникновения.

Предварительное ректальное или вагинальное введение «Колегеля» с деринатом способствует снижению реакций, позволяет провести лучевую терапию без перерыва. «Колегель» с димексидом, диоксидином и лидокаином оказывает при ректальном и вагинальном введении антибактериальное и обезболивающее действие.

А.Г. Орлова¹, А.В. Масленникова^{1,2,3},
Г.Ю. Голубятников¹, Т.И. Пряникова³,
И.И. Иванова², В.А. Каменский¹, И.В. Турчин¹

МОНИТОРИНГ ОКСИГЕНАЦИИ НОВООБРАЗОВАНИЙ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ПЕНТОКСИФИЛЛИНА МЕТОДОМ ОПТИЧЕСКОЙ ДИФфуЗИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

¹Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород

²Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород

³Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород

Задачи исследования. Опухолевая гипоксия относится к ряду ключевых факторов прогрессии новообразований и рассматривается как источник резистентности к действию лучевой и химиотерапии.

С целью преодоления устойчивости к лечебным воздействиям развивается ряд методов, направленных на повышение уровня оксигенации опухолей.

Для оценки их эффективности необходима разработка новых подходов, позволяющих получать информацию о динамике оксигенации новообразований *in vivo*. В настоящей работе для решения данной задачи был предложен метод оптической диффузионной спектроскопии (ОДС), позволяющий неинвазивно определять уровень оксигенации биологических тканей по содержанию основных тканевых хромофоров – окисленного и восстановленного гемоглобина.

Материалы и методы. Эксперименты проводились на белых нелинейных крысах с перевиваемой экспериментальной опухолью лимфосаркомой Плисса. В качестве корректора опухолевой гипоксии был использован препарат, повышающий микроциркуляторную перфузию – пентоксифиллин.

Препарат вводили внутривенно, однократно в дозе 50 мг/кг. В работе использовалась установка для ОДС, разработанная в ИПФ РАН (Нижний Новгород).

Результаты и выводы. Уже через 25 минут после введения пентоксифиллина вызывал увеличение уровня насыщения крови кислородом (StO₂) в зоне опухоли. Повышение сатурации сохранялось в течение определенного временного интервала (до 70 минут) после введения. В дальнейшем уровень StO₂ снижался до исходных значений.

В результате серии повторных исследований был выявлен временной промежуток, в течение которого наблюдается повышение уровня оксигенации опухоли. В то же время, в нормальных тканях препарат не оказывал выраженного влияния на кислородный статус. Наблюдаемая динамика уровня StO₂ объясняется повышением кровенаполнения опухоли (рост содержания общего гемоглобина) и увеличением доставки кислорода тканям (рост содержания оксигемоглобина). Таким образом, метод ОДС позволяет определять параметры, характеризующие динамику оксигенации экспериментальной опухоли в условиях воздействия кислород-модифицирующих агентов.

Л.А. Островская¹, С.М. Деев², С.В. Лукаш²,
Б.Я. Коган³, Г.Н. Ворожцов³, М.М. Фомина¹,
Н.В. Блюхтерова¹, В.А. Рыкова¹

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТА БАРНАЗА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VIVO*

¹Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля РАН, Москва

²Институт биоорганической химии РАН, Москва

³ФГУП «ГМЦ «НИОПИК», Москва

Задачи исследования. Известно, что препарат барназа, представляющий собой стабильный при температурах менее 54 °С белок, обладает способностью усиливать в условиях *in vitro* цитотоксический эффект повышенных температур в отношении ряда стабильных клеточных линий опухолей человека. Задача данной работы состоит в изучении противоопухолевой активности барназы при монотерапии, а также при совместном применении с гипертермией в условиях *in vivo*.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на модели карциномы легких Льюис (мышы BDF1), перевиваемой подкожно. Препарат барназы – рибонуклеаза, представляющая собой термостабильный ферментативный малый белок (мол.масса 12 кДа), получен генноинженерным путем из клеток *E.coli*. Препарат применялся однократно в/в, в/б, интратуморально в разовых дозах 12,5; 25; 50; 70 мг/кг, вводимых в объемах от 0,1 до 1,0 мл. Сочетанное применение барназы и гипертермии проводилось на 4 сутки после перевивки опухоли при однократном в/в введении препарата (25 мг/кг) непосредственно перед нагревом опухоли (44 °С в течение 15 минут). Нагрев опухоли осуществлялся при локальном облучении опухолевого узла диодным лазером (длина волны 810 нМ). Противоопухолевый эффект терапии оценивался при сопоставлении кинетики развития опухолей в группах леченных и контрольных животных. Показателем ростиингибирующей активности соединений служил коэффициент торможения роста опухоли (ТРО%).

Результаты. Установлено, что барназа хорошо переносится животными при однократном в/в введении в диапазоне доз от 12,5 до 70 мг/кг. Сравнительная оценка эффективности барназы при в/в, в/б и интратуморальном введении позволила установить, что наибольшую активность препарат проявляет при в/в применении. Обнаружена линейная зависимость эффекта от дозы, выражающаяся в ингибировании развития карциномы Льюис на 40–90 % при в/в применении барназы в диапазоне доз от 12,5 до 70 мг/кг. Установлен терапевтический синергизм при комплексном применении гипертермии и барназы, выражающийся в полном ингибировании развития карциномы Льюис.

Выводы. Препарат барназа обладает в условиях *in vivo* выраженной противоопухолевой активностью при монотерапии и при сочетанном применении с гипертермией.

Л.А. Островская¹, Б.Я. Коган², Г.Н. Ворожцов²,
М.Г. Воронков³, М.М. Фомина¹, Н.В. Блюхтерова¹,
В.А. Рыкова¹, К.А. Абзаева³, Л.В. Жилицкая³

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСНОЙ ГИПЕРТЕРМИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

¹Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля РАН, Москва

²ФГУП «ГМЦ «НИОПИК», Москва

³Иркутский институт химии имени А.Е. Фаворского СО РАН, Иркутск

Задачи исследования. Задача работы состоит в экспериментальном изучении противоопухолевой эф-

фективности лазерной гипертермии, применяемой в комплексе с химическими соединениями различной природы (аскорбиновая кислота, бинарная каталитическая система «Терафтал + Аскорбиновая кислота», пероксид водорода, ферментативный белок барназа, цитостатики цисплатин, доксорубин, циклофосфан, таксол, аурумакрил, аргакрил) на моделях солидных опухолей животных.

Материалы и методы. В качестве опухолевых тест-систем служили аденокарцинома Акатол (мыши линии BALB/c), карцинома легких Льюис, лейкоз Р-388 (мыши BDF1), перевиваемые подкожно. Гипертермическое воздействие на опухоль проводилось при температуре 44 °С в течение 15 минут. Нагрев опухоли осуществлялся при локальном облучении опухолевого узла диодным лазером (длина волны 810 нм). Температура контролировалась на глубине 5 мм с помощью термодатчика (медь-константан) устройством «Термодат11-М3». Локальное облучение опухолей проводилось однократно на 4 сутки после перевивки. Потенциальные термосенсибилизаторы вводились в/в однократно за 1 час до сеанса гипертермии. Противоопухолевый эффект терапии оценивался при сопоставлении кинетики развития опухолей в группах леченных и контрольных животных. Показателем ростиингибирующей активности соединений служил коэффициент торможения роста опухоли (ТРО%).

Результаты. Установлен оптимальный режим применения лазерной гипертермии, приводящей к 50% ингибированию роста опухолей. Показано, что барназа, пероксид водорода, цитостатики цисплатин, доксорубин, препараты, содержащие золото (аурумакрил) и серебро (аргакрил), обладают термосенсибилизирующими свойствами и способны усиливать противоопухолевый эффект гипертермии, вызывая до 70–90 % торможения опухолевого роста.

Выводы. Экспериментальное изучение противоопухолевой активности комплексной лазерной гипертермии позволило выявить ряд препаратов, способных повысить ростиингибирующий эффект гипертермии с 50 до 70–90 %, что свидетельствует о целесообразности дальнейших исследований в данном направлении.

Н.Ю. Очеева, Т.Н. Заботина, О.В. Короткова, А.А. Борунова, З.Г. Кадагидзе
ИЗУЧЕНИЕ ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ ГЕТЕРОГЕННОСТИ CD8 ЛИМФОЦИТОВ
 РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

В структуре клеточного звена иммунитета ведущая роль в генерации специфического иммунного ответа принадлежит CD3 Т-лимфоцитам и их субпопуляциям CD4 и CD8. В норме все CD4⁺ лимфоциты являются CD3 Т-клетками с фенотипом CD4⁺CD3⁺CD45⁺, однако популяция CD8⁺ лимфоцитов является фенотипически гетерогенной и представлена как CD8⁺CD3⁺CD45⁺, так и CD8⁺CD3⁺CD45⁺ клетками, а по плотности экспрессии CD8 белка на поверхностной мембране различают CD8⁺CD45⁺ клетки как с высокой (high), так и со средней/слабой (medium/low) его экспрессией.

Цель исследования. Изучение фенотипической структуры CD8 лимфоцитов здоровых доноров.

Материалы и методы. В качестве клеточных мишеней использовали лимфоциты периферической крови 29 здоровых доноров. Изучали иммунофенотип с помощью МКА, конъюгированных различными флуорохромами (Beckman Coulter, BD Biosciences). Многопараметровый проточно-цитометрический анализ проводили на приборе FACSCalibur с коммерче-

ским пакетом программ сбора и анализа данных. Использовали гистограммный и DotPlot-анализ. Определяли относительное количество антиген (белок) позитивных клеток (%), а также плотность антигенных детерминант (белка) на поверхности плазматической мембраны по среднему каналу интенсивности флуоресценции (MFI).

Результаты. Популяция лимфоидных CD8 клеток в периферической крови здоровых доноров составляет 34,8±1,9 %. В структуре CD8 на долю клеток с фенотипом CD8+CD3+CD45+ приходится 78,4 %, что составляет 27,3±2,4 % антигенположительных клеток, а клетки с фенотипом CD8+CD3-CD45+ в норме составляют 21,6 % и определяются на 7,5±1,5 % лимфоцитов. С помощью метода проточной цитометрии был проведен анализ гистограмм распределения клеток по интенсивности флуоресценции. Выявлено, что 67,6±2,1 % CD8+ лимфоцитов являются клетками с высокой плотностью антигена, при этом 32,0±1,9 % CD8+ лимфоцитов обладали средней/слабой степенью насыщения этим белком. DotPlot-анализ позволил выявить, что именно CD8 high популяция лимфоцитов является CD3+ цитотоксическими Т-клетками с фенотипом CD8+CD3+CD45+, в то время как субпопуляция CD8 med/low не коэкспрессирует на своей поверхности CD3 антиген.

Выводы. Таким образом, по степени экспрессии поверхностного антигена на мембране CD8⁺ лимфоцитов периферической крови возможно выявление различных субпопуляций, в том числе специфических цитотоксических Т-клеток.

А.А. Панкратов¹, Т.Н. Андреева¹, Р.И. Якубовская¹, Б.Я. Коган², А.В. Бутенин², Р.К.-Г. Фейзулова², В.И. Чиссов¹, Г.Н. Ворожцов²

НАНОКОМПОЗИТЫ НА ОСНОВЕ РЯДА ФТАЛОЦИАНИНОВ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА ДЛЯ ФДТ ЗНО

¹ФГУ «МНИОИ им. П.А. Герцена Минздрава России», Москва

²ФГУП «ГНЦ НИОПИК», Москва

Цель исследования – изучение наночастиц (Нч) фталоцианиновой природы в качестве профотосенсибилизаторов (про-Фс) для ФДТ.

Исследования проводили на мышах с саркомой S-37 (S-37). Нч на основе фталоцианина алюминия (AlPc) и цинка (ZnPc), а также безметалльного фталоцианина (H₂Pc) вводили однократно внутривенно. В экспериментах варьировали дозу Нч и параметры импульсного и непрерывного лазерного облучения. Опухолевый узел облучали последовательно: сначала импульсным излучением (через 2–3 мин после введения Нч), затем – непрерывным излучением (через 2–3 мин после импульсного облучения).

После внутривенного введения Нч на основе AlPc, ZnPc и H₂Pc с последующим облучением опухоли высокоэнергетическими лазерными импульсами только в зоне воздействия наблюдали специфическую флуоресценцию, характерную для молекулярной (фотоактивной) формы соединения.

Таким образом, применение фотоинертного про-Фс и его активация непосредственно в опухоли позволяет эффективно провести сеанс ФДТ при минимальном повреждении здоровых тканей и избежать такого побочного действия этого метода лечения, как повышенная фоточувствительность, которая является одним из лимитирующих факторов его применения.

Индивидуально как импульсное, так и непрерывное облучение опухоли у мышей с S-37 после предварительно введенных Нч не приводило к ингибированию ее роста: величина ТРО не превысила 33 %. В то время как последовательное облучение опухоли импульсным и непрерывным лазерным излучением оказывало выраженное лечебное действие, приводя к длительному ингибированию роста опухоли и излеченности животных. Установлено, что эффективность метода зависела от вида Нч, повышалась при увеличении их дозы (с 0,5 до 7 мг/кг) и суммарной плотности энергии импульсного излучения (с 0,6 до 30 Дж/см²), а также уменьшении плотности мощности непрерывного излучения (со 100 до 10 мВт/см²). Наилучшие результаты лечения были получены при использовании Нч ZnPc и AlPc. Так, при оптимальных режимах лечения у мышей с S-37 наблюдали ТРО на уровне 100% – 93% и полную излеченность животных в 10% – 40% случаев.

Таким образом, наноструктуры на основе AlPc, ZnPc и H₂Pc могут быть использованы в качестве «про-Фс» в методе ФДТ. Локальный перевод фотонегативного «про-Фс» в фотоактивный Фс возможен путем облучения зоны интереса высокоэнергетическими лазерными импульсами с длиной волны излучения в области поглощения наноструктур.

А.А. Панкратов¹, Ю.Б. Венедиктова¹, Т.Н. Андреева¹, Р.И. Якубовская¹, Б.Я. Коган², А.В. Бутенин², О.Л. Калия²

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМБИНИРОВАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ЛАЗЕРИНДУЦИРОВАННОЙ ГИПЕРТЕРМИИ И БКС

¹ФГУ «МНИОИ им. П.А.Герцена Минздравсоцразвития России», Москва

²ФГУП «ГНЦ НИОПИК», Москва

Цель исследования. Изучение противоопухолевой эффективности комбинированного применения лазериндуцированной гипертермии (ЛИГТ) и бинарных каталитических систем (БКС) *in vivo*.

Материалы и методы. Исследования проводили на мышах гибридах BDF1, самках с перевиваемыми опухолями: карциномой легких Льюис (LLC) и саркомой S-37 (S-37). Лечение начинали на 7 сутки после инокуляции опухолевого материала. В качестве БКС использовали: «Терафтал-лио + Аскорбиновая кислота» (ТФ+АК), «Эфитер + Аскорбиновая кислота» (ЭТФ+АК), «Оксикобаламин-лио + Аскорбиновая кислота» (ОК+АК). Компоненты БКС вводили внутривенно однократно в терапевтических дозах. ЛИГТ (430С, 10 минут) проводили на длине волны 1,06 мкм дистанционным методом с помощью неодимового лазера.

Результаты. При изучении противоопухолевой эффективности комбинированного применения БКС на основе терафталла, эфитера и оксикобаламина и ЛИГТ наиболее чувствительной к лечению оказалась саркома S-37. Так, комбинированное применение этих БКС и ЛИГТ у мышей с S-37 приводило к длительному (более 19 суток) ингибированию роста опухоли на 50% – 71%. У мышей с карциномой легких LLC терапевтический эффект комбинированной терапии был несколько ниже – величина ТРО не превысила 62%. Однако, принимая во внимание размер патологического очага, который на день лечения составлял ~ 2,0 см³, выявленный противоопухолевый эффект можно считать значительным. При этом терапевтическая эффективность каждого метода в отдельности была низкой: величина ТРО не превысила 42 %. Наиболее выраженные термосенсибили-

зирующие свойства были выявлены у БКС «ТФ + АК» и «ЭТФ + АК»: у животных в этих опытных группах наблюдали повышение терапевтической эффективности ЛИГТ в среднем на 49% – 52%.

Выводы. Таким образом, БКС «ТФ + АК», «ЭТФ + АК» и «ОК+АК» эффективно повышали терапевтическую эффективность ЛИГТ, что свидетельствует о наличии у этих БКС выраженных термосенсибилизирующих свойств.

В.В. Пасов, Н.С. Белая, О.В. Терехов, Е.В. Горанская
РЕКСОД В ЛЕЧЕНИИ ЛУЧЕВЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ КОЖИ
ФГБУ МРНЦ МЗ РФ, Обнинск

Задачи исследования. Оценить эффективность препарата Рексод (супероксиддисмутазы) у больных лучевым фиброзом мягких тканей различной локализации с помощью микроволновой радиотермометрии.

Материалы и методы. Частота и тяжесть лучевых повреждений зависит от объема облученной ткани, источника и ритма облучения, разовой и суммарной очаговой дозы, повторных курсов лучевой терапии, а также индивидуальной чувствительности к ионизирующему излучению. Нами были исследованы 60 человек с лучевыми повреждениями кожи и подкожно-жировой клетчатки, в 43,3 % случаев проводилось лечение рака молочной железы. Повторная лучевая терапия проведена в 11,6 % случаев, что было связано с рецидивом и прогрессированием рака молочной железы. Применялись инъекции супероксиддисмутазы (препарат Рексод) в зону фиброза. Супероксиддисмутазы – антиоксидантное средство, является эндогенным акцептером свободных кислородных радикалов. В качестве диагностических и контрольных мероприятий эффективности применения супероксиддисмутазы использовали микроволновую радиотермометрию на аппарате РТМ – 01 – РЭС. Сначала проводилось измерение области фиброза и контрлатеральной стороны, затем обкалывали зону фиброза препаратом Рексод в течение 5 дней. Терапевтическая эффективность оценивалась с учетом динамики клинической симптоматики (чувствительность, цвет кожи, тургор тканей), субъективных ощущений и на основании дополнительных методов исследования.

Результаты и выводы. При проведении микроволновой радиотермометрии оценивались колебание внутренней и наружной температуры в области фиброза до лечения и через 3 мес. после лечения супероксиддисмутазой. Статистический анализ продемонстрировал достоверное увеличение показателей внутренней температуры кожи и подкожно-жировой клетчатки после лечения до 35,5–36 °С и поверхностной температуры до 33,5–34 °С, что говорит об улучшении кровообращения в области фиброза. Таким образом, препарат Рексод значительно повышает эффективность комплексных мероприятий у больных с местными лучевыми повреждениями.

Л.А. Пашева¹, Н.Б. Преснякова²,
А.Ю. Барышников³, В.В. Новиков^{2,4}

СЫВОРОТОЧНЫЙ УРОВЕНЬ РАСТВОРИМЫХ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ АНТИГЕНОВ У ДЕТЕЙ С В (II) COMMON ВАРИАНТОМ ОСТРОГО ЛИМФОБЛАСТНОГО ЛЕЙКОЗА

¹НОДКБ, Нижний Новгород

²НИИЭМ им. И.Н.Блохина, Нижний Новгород

³РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

⁴ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород

Задачи исследования. Поиск новых параметров, характеризующих опухолевый клон, и на этой основе

совершенствование принципов дифференцированной терапии при острых лейкозах является актуальной проблемой практической онкогематологии. Важную роль в регуляции противоопухолевого иммунного ответа играют мономерные и олигомерные фракции растворимых форм (s-форм) мембранных антигенов клеток иммунной системы. Целью настоящего исследования является сравнительное определение среднего уровня суммарных и олигомерных фракций sCD25, sCD38, sCD95 в сыворотке крови здоровых детей и детей с диагнозом ОЛЛ В(II) common.

Материалы и методы. Использовано 16 образцов сыворотки крови детей от 3 до 15 лет с диагнозом ОЛЛ В(II) common, полученных до начала специфического лечения, и 100 образцов сыворотки крови практически здоровых детей сходного возраста в качестве контроля. Определение уровня растворимых молекул проводили двухсайтовым иммуноферментным методом с использованием моноклональных антител серии ИКО.

Результаты и выводы. Обнаружено статистически значимое повышение среднего сывороточного уровня суммарных и олигомерных фракций молекул sCD25 в 1,7 и 2,1 раза соответственно у детей с диагнозом ОЛЛ В(II) common по сравнению с контрольной группой. Содержание суммарных и олигомерных фракций молекул sCD38 в сыворотке крови больных детей было повышено в 2,4 и 2,5 раза соответственно. Средний сывороточный уровень суммарных и олигомерных фракций sCD95 также был повышен в 1,9 и 2,6 раз у детей с лейкозом. Все указанные различия статистически значимы ($p < 0,05$). Повышение концентрации растворимых форм мембранных антигенов в сыворотке крови детей с диагнозом ОЛЛ В(II) common, вероятно, является механизмом супрессии иммунного ответа, обеспечивающего уход опухолевого клона от иммунного надзора.

*И.В. Пашикевич, Е.О. Букаева,
Н.А. Плотнокова, П.М. Канаев*
**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ
ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ
ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МЕКСИДОЛА
И ЭМОКСИПИНА НА МОДЕЛИ
ПЕРЕВИВАЕМОЙ КАРЦИНОМЫ ЛЬЮИСА
И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ УРЕТАНОВОМ
КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ**
ГОУВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», Саранск

В настоящее время заболеваемость злокачественными новообразованиями неуклонно возрастает. Значительную роль в этом играет перегруженность и несостоятельность естественной антиоксидантной системы. Решить данную проблему позволяет использование антиоксидантов экзогенного происхождения. Большое внимание в последнее время отводится производным 3-оксипиридина – мексидолу и эмоксипину.

Цель исследования. Изучение динамики показателей перекисного окисления липидов в сыворотке крови под влиянием производных 3-оксипиридина.

Материалы и методы. Эксперимент был поставлен на 180 нелинейных белых мышках массой 20–22 г в возрасте 2 месяцев. В ходе проведенных нами исследований мы оценивали динамику изменений биохимических показателей периферической крови при перевиваемых карциномах Льюиса и экспериментальном уретановом канцерогенезе. Оценку

проводили по содержанию одного из конечных продуктов свободнорадикальной реакции липоперекисления – малонового диальдегида (МДА), уровень которого применяется для определения тяжести патологических изменений. Дополнительно изучали показатели одного из промежуточных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) – Fe-МДА.

Результаты. Применение эмоксипина в качестве онкопротектора способствовало положительной динамике показателей МДА и Fe-МДА в плазме крови. В группе животных с экспериментальными опухолями легких выявлено снижение уровня МДА на 73,15 %, Fe-МДА – на 105,63 %, с перевиваемой карциномой Льюиса уровень МДА снизился на 61,27 %, Fe-МДА на 107,13 % по сравнению с группой контроля.

При коррекции мексидолом (0,1 мг/кг) наблюдалось достоверное снижение уровня МДА на 85,16 %, Fe-МДА – на 113,7 % при экспериментальном уретановом канцерогенезе. В группе животных с перевиваемой карциномой Льюиса активность МДА снизилась на 54,3 %, Fe-МДА – на 86,71 %.

Выводы. Введение эмоксипина и мексидола достоверно снижали уровень продуктов ПОЛ в сыворотке крови.

Э.Р. Переверзева, И.Д. Трещалин
**ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ
ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ КРЫС
ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ПРИМЕНЕНИИ
ДОКСОРУБИЦИНА И УЛЬТРАЗВУКОВОЙ
ГИПЕРТЕРМИИ**
НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАН, Москва

Цель исследования. Изучение особенностей повреждающего действия доксорубицина (ДОКС) в комбинации с ультразвуковой гипертермией (УЗГТ) на органы и ткани крыс.

Материалы и методы. Изучение морфологических изменений внутренних органов было проведено на 30 крысах Wistar самках, массой тела 200–220 граммов. Животные получали ДОКС в разовой дозе 1,5 мг/кг внутривенно трехкратно с интервалом 24 ч. После каждого введения противоопухолевого препарата производили УЗГТ-воздействие локально на область мышцы бедра. Температура воздействия в ткани составляла 41,5 °С. Группа положительного контроля получала ДОКС в тех же дозе и режиме. На 3 и 30 сутки после воздействия по 5 крыс из группы забивали. Участки органов фиксировали в 10% нейтральном формалине, по стандартной методике заливали в парафин, срезы окрашивали гематоксилин-эозином.

Результаты. На 3 сутки после введения ДОКС в печени были найдены единичные очаги микронокроза гепатоцитов. К концу наблюдения в очагах микронокроза появлялись признаки организации. В почке сразу после курса было выявлено полнокровие, отек интерстиция, единичные очаги вакуольной дистрофии или микронокроза эпителия извитых канальцев. В миокарде к 30 суткам после окончания введенный развивался сильный отек интерстиция и мышечных волокон и появлялись очаги токсической кардиомиопатии. Умеренная атрофия лимфоидной ткани в тимусе и лимфоузлах была отмечена только на 3 сутки после курса.

При сочетанном использовании ДОКС и УЗГТ морфологические изменения в печени, почке, сердце и тимусе были идентичны описанным выше. В лимфоузлах атрофия лимфоидной ткани к 30 суткам сменялась гиперпластическими реакциями.

В мышце бедра на 30 сутки после комбинированного воздействия были выявлены единичные мышечные волокна, подвергшиеся атрофии.

Выводы. Комбинирование доксорубицина с УЗГТ не приводит к усилению токсических свойств противоопухолевого препарата или к возникновению новых видов токсичности.

Необходимо учитывать возможность отдаленного развития атрофии мышечной ткани и гипертрофии регионарных лимфоузлов.

Э.Р. Переверзева, И.Д. Трещалин

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ КРЫС ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ПРИМЕНЕНИИ ИФОСФАМИДА И УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ГИПЕРТЕРМИИ

НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАМН, Москва

Цель исследования. Изучение особенностей повреждающего действия ифосфамида (ИФ) в комбинации с ультразвуковой гипертермией (УЗГТ) на органы и ткани крыс.

Материал и методы. Изучение морфологических изменений внутренних органов было проведено на 30 крысах Wistar самках, массой тела 200–220 граммов. Животные получали ИФ в разовой дозе 150 мг/кг внутривенно пятикратно с интервалом 24 ч.

После каждого введения противоопухолевого препарата производили УЗГТ-воздействие локально на область мышцы бедра. Температура воздействия в ткани составляла 41,5 °С.

Группа положительного контроля получала ИФ в тех же дозе и режиме. На 3 и 15 сутки после воздействия по 5 крыс из группы забивали. Участки органов фиксировали в 10% нейтральном формалине, по стандартной методике заливали в парафин, срезы окрашивали гематоксилин-эозином.

Результаты. Применение ИФ вызывало на 3 сутки после курса глубокую атрофию лимфоидной ткани в тимусе, лимфоузлах и селезенке. К 15 суткам эксперимента структура тимуса восстанавливалась. В лимфоузлах и селезенке умеренная атрофия лимфоидной ткани фолликулов сохранялась до конца эксперимента.

Сразу после УЗГТ-воздействия в лимфоузлах и селезенке возникала умеренная атрофия лимфоидной ткани в отдельных лимфоидных фолликулах. К 15 суткам структура тимуса восстанавливалась. В лимфоузлах изменения сохранялись до конца наблюдения. В области воздействия на 3 сутки после курса УЗГТ были найдены умеренные структурные изменения мышцы бедра (очаговый отек, гиперэозинофильные мышечные волокна, транзиторные лимфатические узелки), которые ослабли к концу эксперимента.

При использовании комбинации ИФ с УЗГТ возникали такие же морфологические изменения в тимусе, лимфоузлах и селезенке, как под воздействием каждого из комбинантов в отдельности.

Применение ИФ с УЗГТ не оказывало влияния на характер морфологических изменений мышечных волокон, возникающих под действием УЗГТ.

Выводы. Комбинированное применение ИФ с УЗГТ не приводит к усилению известных токсических свойств противоопухолевого препарата или к возникновению новых видов токсичности, что позволяет рекомендовать это сочетание воздействий для клинического испытания.

При клинических испытаниях контроль токсичности комбинации, по-видимому, может быть сведен к контролю токсичности ИФ.

Э.Р. Переверзева, И.Д. Трещалин

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ КРЫС ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ПРИМЕНЕНИИ ЦИСПЛАТИНА И УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ГИПЕРТЕРМИИ

НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАМН, Москва

Задачи исследования. Изучение особенностей повреждающего действия цисплатина (ЦП) в комбинации с ультразвуковой гипертермией (УЗГТ) на органы и ткани крыс.

Материалы и методы. Изучение морфологических изменений внутренних органов было проведено на 30 крысах Wistar самках, массой тела 200–220 граммов. Животные получали ЦП в разовой дозе 2 мг/кг внутривенно трехкратно с интервалом 24 ч. Сразу после каждого введения противоопухолевого препарата производили УЗГТ-воздействие локально на область мышцы бедра. Температура воздействия в ткани составляла 41,5 °С. Группа положительного контроля получала ЦП в тех же дозе и режиме. На 3 и 30 сутки после воздействия по 5 крыс из группы забивали. Участки органов фиксировали в 10% нейтральном формалине, по стандартной методике заливали в парафин, срезы окрашивали гематоксилин-эозином.

Результаты. Применение ЦП в комбинации с УЗГТ вызывает морфологические изменения в печени, почках, сердце, легких, яичниках, тимусе, лимфоузлах, селезенке, желудке, кишечнике и поджелудочной железе крыс. При комбинированном воздействии повреждения структуры тимуса, лимфоузлов, селезенки, толстой кишки и поджелудочной железы были идентичны изменениям, возникающим при применении ЦП в монорежиме. В печени и миокарде морфологические изменения были зарегистрированы у отдельных животных и не отличались от изменений, возникающих под действием УЗГТ. В почках, яичниках, желудке, тощей и подвздошной кишке на 3 сутки после комбинированного воздействия повреждения структуры были выражены слабее, чем при использовании одного ЦП, однако через месяц после воздействия морфологические изменения этих органов были одинаковыми в обеих группах животных.

Интерстициальный пневмонит, возникающий под действием ЦП, при комбинированном воздействии проявился раньше, чем при применении ЦП в монорежиме. Характер изменений в мышце бедра был таким же, как при использовании УЗГТ в монорежиме.

Выводы. Комбинирование ЦП с УЗГТ не приводит к усилению токсических свойств противоопухолевого препарата или к возникновению новых видов токсичности. Проявления токсического действия ЦП могут быть несколько отсрочены. Необходимо контролировать состояние легочной ткани и учитывать возможность отдаленного развития пневмосклероза.

А.Д. Перенков, Д.В. Новиков, Е.Ю. Конторицкова,

К.А. Коровушкина, В.В. Новиков, О.В. Уткин

ИССЛЕДОВАНИЕ ВСТРЕЧАЕМОСТИ мРНК МОЛЕКУЛЫ CD38 В ОПУХОЛЕВЫХ ОЧАГАХ БОЛЬНЫХ АДЕНОКАРЦИНОМой ТЕЛА МАТКИ

*НИИ молекулярной биологии и региональной биологии ННГУ им Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород
Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород*

Введение. Молекула CD38 представляет собой трансмембранный гликопротеид, выполняющий в клетках рецепторную и энзиматическую функцию.

Наряду с экспрессией на клетках иммунной системы, он представлен на некоторых эпителиальных клетках. Данные о характере экспрессии гена, кодирующего молекулу CD38 эпителиальными опухолевыми клетками, авторам не известны. Задачей настоящей работы явилось исследование встречаемости мРНК гена CD38 в клетках опухолевых очагов больных раком тела матки в сравнении с количеством CD38-положительных моноклеарных клеток крови и сывороточным содержанием растворимых молекул CD38.

Материалы и методы. В работе использовали 27 образцов клеток опухолевых очагов и сыворотки крови больных раком тела матки и 30 образцов сыворотки крови здоровых доноров. мРНК гена CD38 выявляли с помощью ОТ-ПЦР с использованием специфических праймеров. Для определения CD38-положительных моноклеарных клеток использовали метод непрямой иммунофлуоресценции с применением моноклональных антител ИКО-20. Сывороточное содержание суммарной и олигомерной фракций растворимых молекул CD38 определяли иммуноферментными методами.

Результаты. Частота обнаружения мРНК гена CD38 в образцах клеток опухолевых очагов больных раком тела матки составила 59 %. В клетках опухолевых очагов четырех больных на фоне полноразмерной мРНК молекулы CD38 обнаружена альтернативная форма, кодирующая молекулу, не содержащую внеклеточный регион. У больных, имеющих мРНК CD38 в клетках опухолевых очагов, обнаружена тенденция к увеличению в сыворотке крови содержания суммарной и олигомерной фракций растворимых молекул CD38 в сравнении нормой в 1,3 и 1,5 раза соответственно. Кроме того, у данных больных обнаружена тенденция к увеличению относительной концентрации CD38-положительных моноклеарных клеток периферической крови. В отсутствие мРНК CD38 в клетках опухолевых очагов сывороточный уровень суммарных молекул CD38 не менялся, а содержание олигомерной фракции имело выраженную тенденцию к повышению, составившую 90,5 % от нормы.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России».

*В.С. Покровский¹, Е.М. Трегалина¹,
Е.В. Лукашева², Т.Т. Березов²*

ПЕРСПЕКТИВЫ ПОИСКА И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИЗУЧЕНИЯ ФЕРМЕНТНЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

¹РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

²РУДН, Москва

Общие свойства. В настоящее время помимо L-аспарагиназы известно более 10 ферментов с доказанной эффективностью *in vivo* или в клинике, которые по механизму антипролиферативного действия можно объединить в две группы:

1. Расщепляющие аминокислоты, необходимые для роста опухолевых клеток и вызывающие регрессию опухолей, препятствуя поступлению в опухолевую клетку питательных веществ извне (L-метионин-γ-лиаза; L-лизин-α-оксидаза; L-аргиназа; L-аргининдезимидаза; L-фенилаланин-аммиак-лиаза; L-тирозин-фенол-лиаза);
2. рибонуклеазы, разрушающие РНК опухо-

левых клеток, оказывающие непосредственное действие на генетические процессы аналогично «классическим» цитостатикам. (ранпирназа; амфиназа; барназа).

В клинических исследованиях показано, что ферменты могут быть эффективными при таких малочувствительных к «классическим» цитостатикам локализациях, как гепатоцеллюлярная карцинома и меланома (L-аргининдезимидаза), мезотелиома плевры (ранпирназа) и др. По ряду биохимических свойств и основных фармакологических эффектов противоопухолевые ферменты имеют свои преимущества и недостатки в сравнении с классическими цитостатиками.

Преимущества:

- относительно высокая специфичность по отношению к конкретному молекулярному субстрату и принципиально иные механизмы действия, например, торможение образования S-аденозил-метионина – предшественника реакций метилирования белков и нуклеиновых кислот, а также участника процесса синтеза фосфатидилхолинов;
- существование достоверных биологических маркеров эффективности, например, дефицит аргининосукцинат-синтетазы в опухолевых клетках – основание для использования ферментов, разрушающих аргинин, в качестве терапевтических средств;
- возможность включения в многокомпонентные схемы высокодозной химиотерапии, благодаря отсутствию лимитирующей гематологической токсичности, в частности, миелосупрессии;
- возможность химического синтеза конъюгатов ферментов с известными противоопухолевыми антибиотиками и моноклональными антителами.

Недостатки и их устранение:

- выраженные антигенные свойства, которые обуславливают иммуногенность (аллергенность, анафилактиченность и быструю наработку резистентности);
- узкий спектр чувствительных опухолевых локализаций;
- относительно низкий выход фермента и высокая трудоемкость при получении из природного источника.

Проблема уменьшения иммуногенности решается путем модификации белковой молекулы (например, пэгилирования) или последовательного применения ферментов с разными антигенными свойствами и одинаковым механизмом действия (например, L-аспарагиназ из разных источников).

Особое значение на этапе доклинических исследований имеет создание оптимальной лекарственной формы ферментного препарата с учетом специфики противоопухолевого и токсического эффектов, а также данных фармакокинетики.

Для некоторых новых ферментов, например L-лизин-α-оксидазы, необходима разработка наиболее эффективной схемы введения с оптимальной переносимостью.

Для рибонуклеаз важно повышение избирательности действия на опухолевые клетки, например путем создания конъюгатов с антителами против мембранных белков, специфичных для конкретных опухолевых клеток. При этом основным критерием результативности конъюгирования является незначительность потери ферментативной, а для антител – иммунологической активности.

Для расширения спектра активности противоопухолевых ферментов важна разработка комбинаций с противоопухолевыми препаратами иного механизма действия с учетом лекарственного взаимодействия под контролем противоопухолевого эффекта, безвредности и фармакокинетики. Проблемы получения фермента из природных источников решаются путем создания рекомбинантных бактериальных штаммов-продуцентов, а также с помощью современных трансгенных технологий.

Заключение. Поиск новых подходов к созданию и доклиническому изучению новых ферментных препаратов с противоопухолевым действием определяется их востребованностью в клинической онкологии. Несомненные преимущества и устранимые недостатки являются основанием для оптимистического прогноза их практического применения. При подготовке новых препаратов на основе ферментов для клинического изучения следует обязательно делать акцент на выявлении и коррекции недостатков с целью улучшения терапевтических характеристик.

Е.М. Полковниченко¹, Е.Г. Зенит-Журавлева¹,
С.Ш. Каршиева¹, А.А. Лушников¹,
Е.М. Трещалина¹, Н.Т. Райхлин¹,
И.А. Букаева¹, Э.Р. Переверзева²

РОЛЬ АРГИРОФИЛЬНЫХ БЕЛКОВ ОБЛАСТЕЙ ЯДРЫШКОВЫХ ОРГАНИЗАТОРОВ В ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ОПУХОЛЕЙ ЧЕЛОВЕКА

¹РОИЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

²НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАМН, Москва

Пролиферативная активность опухоли складывается из 2 составляющих: 1) количество пролиферирующих клеток (маркер Ki-67) и 2) скорость прохождения клеткой митотического (клеточного) цикла. Маркерами скорости прохождения клеточного цикла являются аргирофильные белки областей ядрышковых организаторов (Ag-ОЯОР-белки). Ag-ОЯОР-белки – это кислые негистоновые белки, участвующие в процессе образования рибосом. Большая часть Ag-ОЯОР-белков (60–70 %) представлена 2 белками, B23/нуклеофозмином (или ньюматрином) и C23/нуклеолином. Кодирующий белок B23/нуклеофозмин ген *NPM1* картирован на хромосоме 5q, содержит 12 экзонов и 11 интронов, длиной около 23 т.п.н. Белок состоит из 294 аминокислотных остатков. Мутации в гене *NPM1* обуславливают aberrантную экспрессию белка и нарушают его функции. Наиболее полно мутации гена *NPM1* описаны у больных острым миелоидным лейкозом (ОМЛ). Известно более 50-ти мутаций, ассоциированных с ОМЛ, в основном локализованных в 12-м экзоне гена *NPM1*. Кодирующий белок C23/нуклеолин ген *NCL* картирован на хромосоме 2q и содержит 14 экзонов и 13 интронов длиной около 11 т.п.н., при этом 11-й интрон кодирует малую ядерную РНК. Белок состоит из 710 аминокислотных остатков.

C23/Нуклеолин – ядерный фосфопротеин, участвующий в регуляции транскрипции, пролиферации и роста клеток, функционирует как транспортный белок между ядром, цитозолем и клеточной поверхностью. Он мигрирует из ядра в цитоплазму и обратно, при этом молекулы на поверхности клеток функционируют как рецепторы для различных лигандов, вовлеченных в контроль дифференцировки, адгезии, деления клеток и ангиогенеза. C23/нуклеолин локализован в основном в фибриллярном компоненте вокруг фибриллярных центров. Некоторое его количество обнаружено в гранулярном компоненте и редко – в фибриллярном центре.

B23/нуклеофозмин – фосфопротеин, который в интерфазе непролиферирующих клеток локализуется по периферии ядрышек в гранулярном компоненте, где осуществляются поздние стадии сборки прерибосомных частиц. В непролиферирующих клетках или в стационарной фазе роста он локализован в нуклеоплазме. В активно пролиферирующих клетках в течение клеточного цикла наблюдается изменение локализации белка из ядрышка в нуклеоплазму и обратно с частотой 10–20 мин, что сопровождается изменением мономер-олигомерного состояния.

Функции B23/нуклеофозмина и C23/нуклеолина во многом сходны, например, они участвуют в сборке рибосом, дупликации центросом при делении клеток, контроле транскрипции, пролиферации и апоптоза. В качестве многофункционального шаперона B23/нуклеофозмин участвует в работе рибосом и передаче сигнала в клетке. Важно, что B23/нуклеофозмин взаимодействует в ядре с белками-супрессорами, например, с продуктом гена *BRCA2*, регулируя клеточную пролиферацию и апоптоз. Кроме того, оба белка связываются с клеточными онкогенами (*K-Ras*, *MAPK*), регулируя их активность, но, в основном, выполняют функции регуляторов скорости прохождения митотического цикла, являясь своеобразными таймерами для «check points» отдельных фаз цикла. Скорость прохождения клеточного цикла соответствует числу, размеру и форме окрашенных аргирофильных гранул и количеству белков C23/нуклеолина и B23/нуклеофозмина в клетках. Такие закономерности были установлены при исследовании различных типов опухолей человека. Например, обнаружена статистически значимая зависимость выживаемости больных плоскоклеточным раком пищевода от количества гранул Ag-ОЯОР-белков. Аналогичные результаты были получены у больных немелкоклеточным раком легкого, опухолями надпочечника, гепатоцеллюлярным раком. При раке желудка, молочной железы и неходжкинских лимфомах увеличение экспрессии пролиферативного антигена Ki-67 и Ag-ОЯОР-белков было сопряжено со значительным повышением риска метастазирования.

Помимо клинических наблюдений важно, что экспрессия Ag-ОЯОР-белков выявляется во многих моделях опухолей животных и человека.

Например, в 10 штаммах рака толстой кишки и нейробластом человека у *nude* мышей показано, что размеры и функциональная активность ядрышек, связанная с увеличением содержания в них Ag-ОЯОР-белков, прямо зависит от времени удвоения объема опухолей. А на модели рака предстательной железы крыс *Dunning R3327* выявлена корреляция экспрессии Ag-ОЯОР-белков с эффективностью противоопухолевого лечения.

Таким образом, полная характеристика пролиферативной активности опухоли невозможна без определения экспрессии Ag-ОЯОР-белков, маркеров скорости деления. Поскольку экспрессия Ag-ОЯОР-белков сопряжена не только с прогрессией опухоли, но и с эффективностью антипролиферативного воздействия, для подготовки доклинической модели опухоли на мышах актуально одновременно с маркером Ki-67 в процессе пассирования определение экспрессии белков B23/нуклеофозмина и C23/нуклеолина. Это позволит охарактеризовать ингибирующее действие агента не только по снижению индекса пролиферации, но и по снижению степени агрессивности опухоли в случае уменьшения экспрессии Ag-ОЯОР-белков. Особенно важна такая характеристика модели для препаратов, не проявляющих прямой цитотоксичности, а реализующих противоопухолевый эффект опосредованно, например, для таргетных агентов, индукторов дифференцировки и т.п.

П.Б. Попов

ФДТ МЕЛАНОМЫ КОЖИ

ФГУ «Южный окружной медицинский центр», Клиника лазерной и фотодинамической терапии Северокавказского противоракового фонда, Краснодар

В настоящей работе представлены результаты применения фотодинамической терапии (ФДТ) в качестве единственного метода лечения больных с меланомой кожи различных клинических форм и локализаций.

Материалы и методы. Наблюдение проводилось за 27 пациентами с морфологически верифицированной меланомой, разделенными на 4 прогностические группы. 1-я группа – 14 больных с благоприятным прогнозом (плоские опухоли с толщиной по Бреслоу до 1,6 мм); 2-я группа – 3 больных с сомнительным прогнозом (плоские опухоли 2–3,5 мм); 3 группа – 3 пациента с неблагоприятным прогнозом (опухоли с толщиной более 4 мм, узловые и беспигментные формы); 4 группа – 7 больных с откровенно плохим прогнозом (крупные d 30–40 мм опухолевые узлы с некрозом). ФДТ проводилась по описанной ранее нами методике. Фотодитазин вводился болюсно в/в 2 мг/кг или в/а 0,8мг/кг, облучение лазером Аткус-2 проводилось интерстициально оригинальными световодами с кварцевыми и сапфировыми диффузорами, плотность мощности 100–200 мВт на 1 см длины цилиндрического диффузора, плотность энергии 100–130 Дж/см² границы раздела опухоль/здоровая ткань. Для снижения светопотери использовались оригинальные светоотражающие экраны. При оценке результата учитывалась полнота ответа, время до начала прогрессирования, наличие местного рецидива или появления метастазов. В сложных для оценки случаях проводилась мультифокальная биопсия.

Результаты. Полной резорбции первичной опухоли удалось добиться во всех группах. Заживление дефекта происходило под струпом с образованием мягкого рубца, даже на месте очень больших опухолей. При сроках наблюдения от 3 до 5 лет признаков прогрессирования заболевания не выявлено у всех пациентов из первых трех групп и у одной больной из 4 группы, наблюдение за ними продолжается. В 4 группе местного рецидива мы также не наблюдали, но у 6 больных в сроки от 4 до 11 мес были обнаружены гематогенные метастазы, общая выживаемость этих больных составила от 8 до 14 мес.

Выводы. Фотодинамическая терапия (ФДТ) открывает возможность проводить радикальное лечение меланомы кожи без осложнений характерных для хирургического лечения. Увеличение безрецидивной выживаемости наблюдаемое после проведения ФДТ, по всей видимости, связано с аутоиммунизацией антигенами опухоли, содержащимися в фотонекротических массах, и требует дальнейшего изучения.

П.Б. Попов

КЛИНИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ НЕПРЯМОГО ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО ЛИЗИСА РЕГИОНАРНЫХ И ОТДАЛЕННЫХ МЕТАСТАЗОВ

ФГУ «Южный окружной медицинский центр», Клиника лазерной и фотодинамической терапии Северокавказского противоракового фонда, Краснодар

Кроме непосредственного фотодинамического повреждения опухоли, известен системный противоопухолевый эффект, который наблюдается при лазерном облучении фотосенсибилизированной кро-

ви. В настоящей работе обобщен пятилетний опыт клинического применения непрямого фотодинамического лизиса (НФЛ) у пациентов с отдаленными метастазами различной локализации.

Материалы и методы. На первом этапе работы при проведении НФЛ мы использовали следующие режимы фотосенсибилизации: хлорин е6 (фотодитазин, фотолон) 0,1 мг/кг; 1,0 мг/кг. При соответствующей кратности процедур курсовая доза составляла 2 мг/кг. В дальнейшем мы отказались от использования дозы 1,0 мг/кг из-за выраженных местных и системных осложнений. Облучение проводилось внутривенно и транскутанно. В первом случае мощность на торце внутривенного полимерного световода составляла 50 мВт, во втором – мощность на торце световода 2 Вт при плотности мощности светового пятна на коже 160 мВт/см². Время облучения 10 мин. НФЛ проводился 16 пациенткам с прогрессированием рака молочной железы после хирургического или комбинированного или комплексного лечения, 5 пациенткам с раком молочной железы с положительной пункцией из регионарного л/у в предоперационном и послеоперационном периоде.

Результаты. В первой группе пациенток полная клинической ремиссия была достигнута у 3 человек, у 7 стабилизация процесса, у 6 прогрессия заболевания продолжалась на фоне лечения. При полном ответе длительность ремиссии в одном случае составила 1,5 года, 2 пациентки наблюдаются более 3 лет без признаков прогрессирования. Во второй группе после операции в 1 случае в л/у опухолевого роста не обнаружено, в 4 случаях отмечается патоморфоз опухолевых клеток 2–3 степени. У всех 5 женщин при сроках наблюдения от 5 до 3 лет признаков прогрессирования не выявлено.

Выводы. НФЛ перспективный метод противоопухолевого лечения, нуждающийся в углубленном изучении. При проведении НФЛ предпочтительней использовать большую кратность процедур при невысоких концентрациях фотосенсибилизаторов.

Внутривенное облучение не имеет преимуществ перед транскутанным при эквивалентной поглощенной дозе энергии, в тоже время чрескожное облучение безопаснее и проще в проведении. НФЛ в предоперационном периоде объективно улучшает отдаленные результаты операции.

И.Р. Просалкова, А.Б. Капитанов,

В.В. Решетникова, М.Я. Шапкина, И.Ж. Шубина,

И.М. Лученко, А.Л. Эйтингон, А.В. Сергеев

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ ПРИРОДНОГО КАРОТИН-ТОКОФЕРОЛОВОГО КОМПЛЕКСА

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Разработан новый лечебно-профилактический препарат на основе природного каротин-токоферолового комплекса (КТК) плодов шиповника, ликопина (ЛК) томов и ненасыщенных жирных кислот репейного масла (РМ).

Ранее нами было показано, что КТК обладает антиканцерогенными и антимуtagenными свойствами. КТК снижал частоту возникновения опухолей у крыс, индуцированных различными химическими канцерогенами, их множественность, увеличивал латентный период появления злокачественных новообразований. Систематическое введение мышам КТК снижало на 30–40 % число хромосомных аберраций в клетках костного мозга, индуцированных циклофосфаном.

Цель исследования. Изучение иммуномодулирующей активности природного КТК и его отдельных компонентов на различных моделях гуморального и клеточного иммунитета.

Материалы и методы. Масляный экстракт плодов шиповника с концентрацией по бета-каротину до 200 мг/% получен традиционным диффузионным методом, а масляные экстракты томатов и РМ извлечены с помощью органических растворителей с их последующим 100% удалением. Пролиферативную активность спленоцитов определяли по включению H^3 тимидина в ДНК лимфобластов, а цитолитическую активность Т-киллеров из смешанной культуры лимфоцитов (СКЛ) по выделению Cr^{51} из клеток-мишеней.

Результаты. КТК и РМ в концентрации 0,1–1,0 мг/мл стимулировали *in vitro* на 40–50 % пролиферативную активность спленоцитов мышей BALB/c, трансформированных аллоантигенами в СКЛ или поликлональным митогеном Кон А. В исследованиях по иммунофармакологии показано, что систематическое ежедневное введение вместе с кормом мышам BALB/c КТК, ЛК или РМ в дозе 10–25 мг/кг в течение 4–8 недель приводило к 1,5–2-кратному увеличению пролиферативной активности спленоцитов, трансформированных аллоантигенами или Кон А и усилению образования числа Т-киллеров в СКЛ селезенки аллогенных мышей. Стимулирующий эффект сохранялся в течение 1,5–2 недель после прекращения введения препаратов животным. Систематическое ежедневное введение мышам препаратов через 4–6 недель приводило к 50–60% увеличению цитотоксической активности перитониальных макрофагов и естественных киллеров селезенки. Введение мышам в течение 2 недель КТК в дозе 1–10 мг/кг повышало на 50–80 % индукцию антителообразующих клеток в селезенке. Препараты КТК и РМ в оптимальной концентрации (10–25 мг/кг) частично корректировали вторичный иммунодефицит у мышей, индуцированный введением противоопухолевого цитостатика арнозы, что проявлялось в достоверном увеличении пролиферативной активности спленоцитов и образовании Т-киллеров в СКЛ.

Выводы. Природный КТК и его отдельные компоненты обладают широким спектром иммуномодулирующей активности и могут использоваться для коррекции вторичных иммунодефицитных состояний, в том числе в процессе комплексного лечения злокачественных новообразований.

Т.И. Пряникова¹, А.В. Масленникова^{1,2}, А.Г. Орлова², Г.Ю. Голубятников², В.А. Каменский², И.В. Турчин²

ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ КИСЛОРОДНОГО СТАТУСА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОПУХОЛИ В ПРОЦЕССЕ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ МЕТОДОМ ОПТИЧЕСКОЙ ДИФфуЗИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

¹Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

²Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород

Состояние гипоксии является характерной особенностью большинства солидных опухолей. Основным методом, используемым в настоящее время для оценки эффективности противоопухолевых агентов, является мониторинг изменений объема опухоли до и после лечения. Большинство из современных методов (УЗИ, компьютерная, магнитно-резонансная томография) не позволяют получать информацию о физиологических свойствах опухолей, в частности, о степени оксигенации опухоли, параметре, необходимом при

оценке ответа опухоли на действие терапии. Оптическая диффузионная спектроскопия (ОДС) – метод визуализации, позволяющий получать информацию об уровне насыщения крови кислородом (StO_2), отражающем кислородный статус тканей.

Цель исследования. Изучение методом ОДС динамики степени StO_2 в ткани опухоли в процессе химиотерапевтического воздействия.

Материалы и методы. В эксперименте были использованы белые нелинейные крысы с перевитой опухолью лимфосаркомой Плисса (ЛСП). ОДС-исследование осуществлялось на 4-й, 6-й и 10-й день после перевивки опухоли. В работе был использован химиотерапевтический препарат циклофосфан. Препарат вводили внутривенно однократно на 4-й день после перевивки опухоли в дозе 50 мг/кг; в качестве контроля использовали не леченых животных.

Результаты и выводы. Проведенные эксперименты показали, что в ходе естественного роста опухоли ЛСП наблюдается снижение уровня оксигенации тканей. Это происходит за счет повышения содержания восстановленного и снижения концентрации окисленного гемоглобина. После воздействия циклофосфаном наблюдается снижение содержания восстановленной формы гемоглобина. За счет этого происходит стабилизация степени оксигенации опухоли. Можно предположить, что действие циклофосфана, направленного на торможение деления и гибель клеток, может привести к снижению потребления кислорода тканью опухоли, и, соответственно, повышению уровня ее оксигенации. Таким образом, метод ОДС позволяет не только наблюдать изменения размеров, но и изучать динамику уровня кислородного статуса опухолей в процессе химиотерапевтического воздействия.

Н.А. Пятаев, О.В. Минаева, Г.С. Столяров,

Н.Н. Зыряева, Н.А. Плотникова

ФАРМАКОКИНЕТИКА И ФАРМАКОДИНАМИКА ДОКСОРУБИЦИНА ПРИ НАПРАВЛЕННОМ ТРАНСПОРТЕ С ПОМОЩЬЮ МАГНИТОУПРАВЛЯЕМЫХ ЭРИТРОЦИТАРНЫХ ТЕНЕЙ

ГОУВПО «МГУ им Н.П. Огарева», Саранск

Цель работы. Изучить особенности органного распределения и эффективность доксорубидина, включенного в состав магнитоуправляемых эритроцитарных теней, при воздействии внешнего магнитного поля у крыс с перевитой карциномой РС-1.

Материал и методы. Эксперименты выполнены на 36 лабораторных крысах с перевитой карциномой РС-1. Животные были разделены на 3 группы по 12 особей в каждой. В контрольной группе животные лечения не получали. В 1-й опытной группе на 7-й день после перевивки внутривенно вводили доксорубидин в дозе 1 мг/кг. Во 2-й опытной – внутривенно доксорубидин в дозе 1 мг/кг, инкорпорированный в эритроцитарные тени, содержащие магнитную жидкость FLW 001.40. Животных фиксировали в специальном станке, над опухолью создавали магнитное поле с помощью постоянного магнита. Эритроцитарные контейнеры получали методом осмотического лизиса аутоэритроцитов с последующей загрузкой магнитной жидкости, доксорубидина и восстановлением осмолярности среды. На 21 сутки после начала лечения животных забивали. Определение концентрации доксорубидина производили (методом ВЭЖХ) в плазме крови, опухолевой ткани, ткани печени, почек, легких, в лимфоузлах, кишечной стенке и в мышечной ткани. Исследовали индекс массы опухоли, число лейкоцитов периферической крови, число язвенных поражений желудочно-кишечного тракта, частоту миокардиодистрофии.

Результаты. В группе животных, которым проводился направленный магнитоуправляемый транспорт, концентрация доксорубина в ткани опухоли была в 8,5 раза выше, чем при внутривенном введении. При внутривенном введении в плазме крови содержание доксорубина было в 3 раза выше, чем при направленном транспорте. Более низкие концентрации доксорубина на фоне направленного транспорта регистрировались и в паренхиматозных органах. В группе животных, которым проводился направленный транспорт, индекс массы опухоли был в 3 раза ниже, чем в группе внутривенного введения и в 5,2 раза ниже, чем в контрольной группе.

Частота и выраженность побочных эффектов химиотерапии (агранулоцитоза, язв желудочно-кишечного тракта, миокардиодистрофий) в группе направленного транспорта была значительно (в 3–5 раз) меньше, чем в 2-й опытной группе животных.

Выводы. Введение доксорубина, включенного в магнитоуправляемых эритроцитарные тени, при одновременном создании над опухолью постоянного магнитного поля позволяет создать в ткани опухоли концентрацию препарата, в 8,5 раз превышающую таковую при внутривенном введении препарата. Антибластомная активность при использовании метода в 3 раза выше, а частота побочных эффектов – в 3–5 раз меньше, чем при внутривенном введении препарата.

Н. Рапопорт

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОЕ ПРЕОДОЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ БАРЬЕРОВ НАПРАВЛЕННОЙ ДОСТАВКИ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ С ПОМОЩЬЮ ПЕРФТОРУГЛЕРОДНЫХ НАНОЭМУЛЬСИЙ И УЛЬТРАЗВУКА

Университет Штата Юта, США

Новая технология лечения локализованных раковых опухолей, включая труднодоступные и неоперабельные опухоли, основана на использовании перфторуглеродных нанокapпель, покрытых оболочкой из биodeградируемого блок-сополимера и содержащих антираковый препарат, и направленного на опухоль ультразвука, что обеспечивает минимальное воздействие на нормальные ткани. Многие аспекты механизма биологических эффектов, связанных с ультразвуковой доставкой химиотерапевтических лекарств, пока не изучены. Чтобы разделить эффекты, наблюдаемые на клеточном уровне и на уровне всего организма, в настоящей работе мы вернулись к исследованиям на культурах клеток и на извлеченной каротидной артерии мыши.

Выводы из этих экспериментов были затем проведены *in vivo* на модели рака поджелудочной железы мыши. Клетки рака поджелудочной железы были трансфектированы красным флуоресцентным протеином, что позволяло наблюдать их гибель *in vivo* используя флуоресцентный имаджинг.

В экспериментах на каротидной артерии мыши мы наблюдали драматическое усиление под ультразвуком экстравазации нанопузырьков и модельного макромолекулярного «лекарства» (флуоресцентно меченного декстрана с молекулярным весом 70 кДа). Масштаб эффекта зависел от параметров и времени применения ультразвука (до или после введения в артерию декстрана и нанокapпель). Присутствие нанокapпель значительно усиливало эффект ультразвука.

В экспериментах на клеточных культурах (рак яичников и рак поджелудочной железы) мы наблюдали эффект ультразвука на проницаемость клеточных и ядерных мембран. В последнем случае использо-

вался растворенный или инкапсулированный в нанокapтелях доxorубин, флуоресценция которого гаснет при интеркаляции в DNA.

Эксперименты *in vivo* были проведены на модели рака поджелудочной железы мыши. Две мыши участвовали в эксперименте. Одной мыши системно вводили пустые (т.е. ненагруженные паклитакселем) пузырьки, второй – такие же пузырьки, но нагруженные паклитакселем. Опухоли (диаметр больше 10 мм) облучали фокусированным ультразвуком в круге диаметром 4 мм. Никакого эффекта ультразвука не наблюдалось у мыши, инъектированной пустыми нанопузырьками, в то время как у мыши, инъектированной нанопузырьками с паклитакселем, клетки, расположенные в зоне ультразвука, погибли, в отличие от клеток, расположенных вне зоны ультразвука. Механизм наблюдаемых эффектов будет обсужден в докладе.

*В.Е. Савельева, С.И. Яровая, К.Г. Пузаков,
И.А. Зайцева, Ю.Н. Потапов*

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА ДИКАРБАМИН В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ЛИМФОМАМИ С ЛЕЙКОПЕНИЕЙ В АНАМНЕЗЕ

*Областной клинический онкологический диспансер,
Воронеж*

Лечение пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями направлено на их излечение. В подобной ситуации необходимо неукоснительное соблюдение интенсивности дозы применяемых цитостатических препаратов, что приводит к увеличению частоты осложнений химиотерапии. Несмотря на наличие в распоряжении врача-химиотерапевта колониестимулирующих факторов (КСФ), лейкопения по-прежнему является фактором, существенно влияющим на качество лечения и прогноз заболевания. Поэтому возможность профилактики угнетения гранулоцитарного роста кроветворения при химиотерапии больных лимфомами представляется достаточно важной.

Задачи исследования. Оценка эффективности дикарбамина при профилактическом использовании у больных лимфомами, у которых ранее на предыдущих курсах химиотерапии были эпизоды лейкопении 3–4 степени или фебрильная нейтропения.

Материалы и методы. Пролечено 8 человек с лимфомой Ходжкина (ЛХ) в IIB–IVB стадиях и 9 больных диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомой (ДКВКЛ), у которых после 1–2 курсов ХТ имело место подавление гранулоцитарного роста кроветворения (лейкопения 3–4 степени, фебрильная нейтропения). При химиотерапии пациентов с ЛХ использовали стандартный режим ВЕАСОРР (51 курс), а при терапии больных ДКВКЛ режимы СНОР-21, СНОЕР-21 (39 курсов). Дикарбамин назначали в стандартном режиме: внутрь ежедневно в дозе 100 мг (1 таблетка), за 5 дней перед курсом химиотерапии и далее до окончания лечения. Анализ влияния на гематологическую токсичность проводили на основании данных о частоте лейкопении III и IV степени, длительности интервала между курсами.

Результаты. У всех больных ЛХ и ДКВКЛ во время лечения на фоне постоянного приема дикарбамина не было эпизодов фебрильной нейтропении. У 4 пациентов из 17 (23,5 %) на 9 из 90 курсов (10,0 %) имела место кратковременная лейкопения III степени, не потребовавшая значимого врачебного вмешательства, в том числе применения КСФ, и не приведшая к отсрочке лечения.

Выводы. Препарат дикарбамин у пациентов с лимфомами при проведении химиотерапии в режимах со средним и высоким риском развития фебрильной нейтропении оказывает значимое гематопротекторное воздействие, позволяя проводить полноценное адекватное лечение основного заболевания, не прибегая к помощи КСФ.

*А.В. Самойлов¹, В.В. Мартиросян¹,
А.З. Кесян¹, Н.М. Сураева²*

ПОЛУЧЕНИЕ ТРАНСГЕННОГО ПОТОМСТВА ОТ ТРАНСГЕННЫХ КУР С ГЕНОМ ГРАНУЛОЦИТАРНОГО КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА ЧЕЛОВЕКА

¹Научно-исследовательский институт пушного звероводства и кролиководства им. В.А. Афанасьева, Московская область

²РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

К преимуществам использования трансгенной птицы по сравнению с млекопитающими можно отнести потенциальные возможности широкомасштабного производства за счет быстрого размножения исходных трансгенных особей, высокий уровень экспрессии экзогенных белков и их правильное гликозилирование и посттрансляционные модификации в организме трансгенных кур, низкую стоимость производства.

Задачи исследований. Цель данного исследования состояла в получении потомства от F0 поколения трансгенной птицы.

Материалы и методы. Трансгенные куры F0 поколения с геном гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (ГКСФ) человека были получены в предыдущих экспериментах методом опосредованного переноса плазмидной ДНК сперматозоидами с помощью липосом. После достижения трансгенными курами F0 поколения возраста шести месяцев и начала яйцекладки, они были искусственно осеменены спермой от нетрансгенных петухов. Методом ПЦР анализировали кровь полученных цыплят на присутствие экзогенной ДНК.

Результаты. После осеменения от каждой курицы было собрано по 9 яиц, яйца инкубировались в течение 21 дней. Было получено 8 цыплят, от каждой курицы по 4 цыпленка, из крови, которых была выделена ДНК и проведен ПЦР-анализ на наличие гена ГКСФ человека. В трех образцах ДНК было отмечено наличие трансгенной вставки, при этом обе трансгенные куры передали плазмидную ДНК своим потомкам. Среди трансгенного потомства оказалось две курицы и один петух. Курица № 2174 передала половине из числа анализируемых потомков (50,0 %) чужеродный ген, а курица № 2182 – только – 25,0%. Необходимо отметить, что полученные фрагменты по своим размерам полностью соответствовали плазмидным.

Выводы. По результатам ПЦР-анализа ДНК цыплят, полученных в результате осеменения, обе трансгенные куры F0 поколения передали плазмидную ДНК своим потомкам. Таким образом, было продемонстрировано хромосомное встраивание гена ГКСФ человека при проведении опосредованного переноса ДНК сперматозоидами с помощью липосом.

*Е.В. Санарова, Е.В. Игнатьева,
А.П. Полозкова, Н.А. Оборотова*

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ КРИОПРОТЕКТОРОВ НА РАЗМЕР ЛИПОСОМ ТИОСЕНСА

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Задачи исследования. Работа заключалась в оценке влияния криопротекторов на размер липосом Тио-

сенса. Данный препарат является отечественным инфракрасным фотосенсибилизатором применяемым для фотодинамической терапии опухолей.

При изготовлении его лекарственной формы обязательным этапом является лиофильная сушка, для проведения которой необходимо добавление криопротекторов, защищающих липосомы от воздействия повреждающих факторов. Поэтому определение воздействия криопротекторов на размер липосом, а соответственно и на качество препарата, является перспективным направлением исследований.

Материалы и методы. Липосомы получали на основе лецитина, холестерина, PEG-2000-PE по методу Бенгхема. В работе были использованы дисперсии липосомального Тиосенса после фильтрации и экстракции (10 раз). Процесс фильтрации и экстракции производили на экструдере LipexTM под давлением. Размер липосом определяли на приборе Submicron Particle Sizer NicompTM 380. В качестве криопротекторов использовали 3,3% и 13,3% растворы Kollidon SR, маннита, сахарозы, лактозы, глюкозы.

Результаты. Добавление к липосомальной дисперсии Тиосенса, имеющей размер липосом после фильтрации и экстракции 175±10 нм, растворов 13,3% Kollidon SR и 3,3% и 13,3% маннита привело к разделению липосом по размерам на 2 фракции, одна из которых имела размер менее 100 нм (48–94 нм), другая была более 200 нм (227–403 нм).

Растворы сахарозы, лактозы и глюкозы обеих концентраций обеспечивали сохранение первоначальных размеров липосом, но в липосомальных дисперсиях с растворами лактозы и глюкозы при стоянии выпадали осадки, причем с 13,3% растворами осадки выпадали быстрее. На основании полученных данных в качестве криопротектора для лиофилизации Тиосенса была выбрана сахароза, точная концентрация которой будет подбираться при проведении дальнейших испытаний.

Выводы. Добавление криопротектора является одним из критических моментов при получении лиофилизированной лекарственной формы Тиосенса. Применение сахарозы практически не вызывало изменения размеров липосом (±15 нм), отсутствовало расслоение по размерам (одна фракция), выпадения осадка не наблюдалось.

*Е.В. Санарова, А.П. Полозкова, О.Л. Орлова,
С.А. Партолина, Ю.В. Родионова, Н.А. Оборотова*

ОТРАБОТКА МЕТОДИКИ ИЗМЕЛЬЧЕНИЯ ЛИПОСОМ ТИОСЕНСА ПРИ МАСШТАБИРОВАНИИ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Тиосенс – активная фармацевтическая субстанция, синтезированная в ГНЦ «НИОПИК» и предназначенная для ФДТ опухолей. В связи с нерастворимостью субстанции Тиосенса в воде в лаборатории разработки лекарственных форм НИИ ЭДито разработана липосомальная лекарственная форма. Биологическими исследованиями показано, что высокий уровень и селективность накопления в опухоли Тиосенса зависят от размера липосом в дисперсии (100–130 нм).

Цель исследования. Определение оптимальных параметров для измельчения липосом Тиосенса на гомогенизаторе высокого давления Microfluidizer M-110S.

Материалы и методы. Липосомы получали на основе лецитина, холестерина, PEG-2000-PE по методу Бенгхема. Размер их определяли на приборе Submicron Particle Sizer NicompTM 380. Экструзию полученной липосомальной дисперсии проводили с использованием гомогенизатора высокого давления Microfluidizer M-110S.

Результаты. Для выбора методики экстрадирования проводилось измельчение липосом Тиосенса при загрузке объемом 21, 45 и 120 мл, давлении 400, 555, 713 атм и значениях стартового размера липосом 256, 680, 251–300 нм. При экстрадировании липосомальной дисперсии Тиосенса со стартовым размером 256 нм, загрузке 21 мл и давлении 400 атм размер липосом, близкий к оптимальному диапазону 90–130 нм получали при продолжительности экстракции 2–5 минут, при загрузке 45 мл – 6 минут, а увеличение давления до 555 атм снизило время экстракции до 1 мин. Большая загрузка (60 мл) и 6 мин измельчения привели к получению липосомальной дисперсии с размерами везикул 83,7 нм (64 %) и 25,4 нм (36 %). Экстрадирование липосомальной дисперсии Тиосенса со стартовым размером 680 нм и давлении 400 атм требует 10 минут измельчения (21 мл). Экстракция липосом со средним размером 251–300 нм (загрузка 40 мл; давление 713 атм) в течение 3 мин обеспечивала получение двух фракций липосом с размерами 36,4 нм (73,9 %) и 11,0 нм (26,1 %), а при загрузке этих же липосом в объеме 120 мл и экстракции в течение 7,5 мин получили везикулы с размерами 72,1 (76,1 %) и 23,3 (23,9 %).

Выводы. Таким образом, для получения оптимального размера липосом (100–130 нм) в липосомальной лекарственной форме Тиосенса необходимо контролировать давление, время измельчения, объем загрузки и стартовый размер липосом.

А.В. Семейкин¹, И.С. Левина², Н.Е. Куликова², Е.Н. Карева¹, Е.В. Одинцова, Б.В. Сучинова¹

ВЛИЯНИЕ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПРОГЕСТЕРОНА НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ КЛЕТОК И ЭКСПРЕССИЮ ИНСУЛИНОПОДОБНОГО ФАКТОРА РОСТА IGF-I И ЭСТРОГЕНОВОГО РЕЦЕПТОРА A (ERα) В КУЛЬТУРЕ РШМ НЕЛА

¹ГОУ ВПО РГМУ, Москва

²УРАН ИОХ им. Н.Д. Зелинского, Москва

Задачи исследования. Изучение влияния производных прогестерона прегна-D'-пентаранов и бутагеста на жизнеспособность культуры клеток рака шейки матки HeLa и экспрессию инсулиноподобного фактора роста.

Материалы и методы. Клетки HeLa инкубировали в присутствии производных прогестерона (K1047 из группы прегна-D'-пентаранов – аналогов прогестерона, содержащих дополнительный карбонцикл D' в 16α,17α положениях и различные функциональные группы в стероидном скелете и бутагеста-прогестерона ацетобутирата) в конечной концентрации 10⁻⁷–10⁻⁵М. Экспрессию мРНК IGF-I и ERα определяли методом RT-PCR. Воздействие препаратов на клеточный рост определяли микроколориметрическим методом – МТТ-тестом. Полученные результаты 3 серий опытов представляли в виде средних значений оптической плотности. С помощью программного пакета GraphPad Prism5 вычисляли показатели экспрессии и жизнеспособности в % от контроля, принимаемого за 100 %.

Результаты. Подавление жизнеспособности культуры клеток HeLa после 7-дневной инкубации с K1047 составило в зависимости от концентрации 13,3–38,0 %, с бутагестом – 38,5–52,1 %, МПА – 8,2–32,5 %, прогестероном 11,1–35,1 %. Экспрессия мРНК IGF-I после инкубации в течение 7 дней с K1047 в концентрации 10⁻⁵М составила 18,5±1,9 %, с бутагестом 26,4±2,2 %, с МПА 45,6±4,1 %, с прогестероном 23,9±2,3 %. При концентрации соединений 10⁻⁶М экспрессия мРНК IGF-I составила 21,6–51,2 %. Подавление экспрессии мРНК ERα исследуемыми соединениями в концентрации 10⁻⁵М составило 68,3–92,7 %.

Выводы. Производные прогестерона K1047 и бутагест угнетают жизнеспособность клеток HeLa, превосходя по цитостатической активности препараты сравнения МПА и прогестерон. Механизм цитостатического действия производных прогестерона может быть опосредован снижением экспрессии мРНК IGF-I и ERα

Работа выполнена в рамках программы развития НИУ ГОУ ВПО РГМУ 2010–2019, ПНР-2, персонализированная медицина.

А. В. Сергеев

ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ЗНО

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Профилактика, диагностика и комплексное лечение злокачественных новообразований (ЗНО) являются приоритетными направлениями современной онкологии. Несмотря на определенные успехи в диагностике и терапии рака, заболеваемость и смертность населения от этой патологии продолжают неуклонно увеличиваться. В связи с этим вопросы профилактики ЗНО приобретают все большее значение. Химиопрофилактика рака (ХПР, Cancer Chemoprevention) является вполне сложившимся самостоятельным направлением онкологии, посвященным поиску средств первичной профилактики ЗНО. Теоретические предпосылки создания средств ХПР основываются на современных представлениях о молекулярно-биологических механизмах канцерогенеза, на многочисленных эпидемиологических исследованиях обратной зависимости между количеством потребляемых человеком некоторых биологически активных веществ (БАВ) и риском развития рака, а также на экспериментальном доказательстве наличия у этих соединений антиканцерогенных свойств. Дополнительное введение БАВ, обладающих антиканцерогенными, иммуномодулирующими, антиоксидантными свойствами, должно повышать противоопухолевый потенциал организма. Наиболее масштабные исследования по ХПР проводятся в США, Европе, Китае, Японии. Несмотря на значительные научные и материальные затраты, успехи в этой области остаются достаточно скромными. Основной проблемой является получение убедительных экспериментальных и клинических доказательств наличия эффективности и безопасности средств ХПР, в том числе при использовании их в группах онкологического риска.

В то же время многие фармацевтические компании рекомендуют свои препараты, в основном БАДы, в качестве средств активной профилактики онкологических заболеваний, не имея на это серьезных экспериментальных и клинических доказательств.

В НИИ ЭДитО РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН на протяжении ряда лет разработано более 10 лечебно-профилактических препаратов в качестве потенциальных средств ХПР. Разработан первый отечественный препарат бета-каротин (БК) по ВФС, а также серия комплексных препаратов на основе БК и других БАВ («Бетаск», «Каскатол» (КТ), «Каскорутол» и др.) На основе фитоэкстрактов созданы препараты «Солодка» (СОЛ), «Эхиноцея», «Шиповник», «Розолакрит» (РЛК), «Чаговит» (ЧГВ), «Чаголюкс» и др.

По всем препаратам проведены необходимые фармацевтические и медико-биологические исследования. Все препараты поступили в аптечную сеть, и пользуются спросом у населения.

В настоящее время разрабатывается перспективный препарат на основе природного каротин-токоферолового комплекса и ненасыщенных жирных кислот, а также проводится работа по созданию профилактических препаратов на основе некоторых растительных полисахаридов, показавших ранее в лабораториях нашего института хорошую противоопухолевую активность.

При разработке вышеперечисленных препаратов особое внимание уделялось технологии получения лекарственных форм, так как средства ХПР не должны содержать токсических примесей.

Наиболее удобными на наш взгляд лекарственными формами для целей ХПР являются драже, мягкие и твердые желатиновые капсулы.

Большое внимание уделяется также разработке методов стандартизации и контроля качества новых препаратов.

Медико-биологические свойства препаратов и их отдельных компонентов изучались нами на моделях, позволяющих установить их антиканцерогенные, антимутагенные, иммуномодулирующие и антиоксидантные свойства совместно с кафедрами фармакологии Архангельского, Московского, Северо-Осетинского медицинских университетов.

На различных моделях химического канцерогенеза доказано, что длительное введение препаратов «КСТ», «СОЛ», «ЧГВ» статистически достоверно снижало число индуцированных опухолей у животных, их множественность, увеличивало латентный период появления опухолей и удлиняло продолжительность жизни животных.

Все препараты и их отдельные компоненты снижали на 30–40% число хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мышей и крыс, индуцированных циклофосфаном или канцерогеном, а сами при длительном введении не обладали мутагенным действием.

Показано, что разработанные препараты обладают широким спектром иммуномодулирующей активности и способны корректировать вторичный иммунодефицит, индуцированный аранозой или циклофосфаном.

Многочисленные введения препаратов уменьшали токсикоз, связанный с прогрессированием лимфолейкоза Р388, подтверждением чему служила тенденция к увеличению средней продолжительности жизни животных и нормализация детоксикационной функции организма.

На моделях хронической свинцовой интоксикации у крыс и мышей показано, что препараты КТЛ, РЛК и ЧГВ увеличивали продолжительность жизни животных, корректировали потерю массы тела, повышали число эритроцитов и гемоглобина крови, уменьшали проявления иммунодепрессии.

Проведена оценка возможности использования разработанных препаратов в группах онкологического риска. Препараты КСТ, ЧГВ и СОЛ были эффективны при длительном использовании у «злобных курильщиков», пациентов с мастопатиями и гиперплазией предстательной железы.

Проведенные исследования позволяют сделать вывод, что разработанные препараты можно рассматривать в качестве потенциальных средств ХПР.

Дальнейшие успехи в области ХПР, по-видимому, будут зависеть не только от создания новых эффективных лечебно-профилактических препаратов, но также от широкого внедрения в практику здравоохранения уже разработанных лекарственных средств и прежде всего активного их применения в группах онкологического риска.

А.В. Сергеев, В.В. Решетникова, И.Р. Просалкова, В.Д. Соколова, М.Я. Шашкина, И.Ж. Шубина, А.Л. Эйтингон

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НОВОГО ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА «РОЗОЛАКРИТ»

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

В НИИ ЭДито РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН совместно с ОАО «Холдинг»-«ЭДАС» создан новый лечебно-профилактический препарат «Розолакрит» (РЛК) на основе лиофилизированных экстрактов корня солодки (ЭС), плодов шиповника (ЭШ) и травы тысячелистника (ЭТ). Разработаны рецептура и технология готовой лекарственной формы в твердых желатиновых капсулах, отработаны критерии стандартизации и контроля качества, проведены необходимые химико-фармацевтические исследования, осуществлен опытно-промышленный и промышленный выпуск. Препарат поступил в аптечную сеть. ЭС, ЭШ и ЭТ обладают широким спектром фармакологической активности, в том числе ярко выраженными противовоспалительными, антиоксидантными, противовирусными и антимикробными свойствами. Многочисленные клинические наблюдения, проведенные в США и Японии, подтвердили эффективность ЭС против вирусов гепатита В и С, герпеса и ВИЧ-инфекции.

Цель исследования. Доклиническое изучение антиканцерогенной, антимутагенной, иммуномодулирующей и антиоксидантной активности препарата РЛК и его отдельных компонентов.

Материалы и методы. Работа проводилась с лиофилизированными ЭС, ЭШ, ЭТ и препаратом РЛК, которые были стандартизированы по глицерризиновой кислоте и сумме полифенольных соединений. Антиканцерогенные, антимутагенные, антиоксидантные и иммуномодулирующие свойства были изучены с использованием ранее разработанных и подробно описанных нами методов.

Результаты. ЭС, ЭШ и РЛК при ежедневном введении крысам вместе с кормом в дозе 10–50 мг/кг снижали на 30–40 % число опухолей молочной железы, желудочно-кишечного тракта и печени индуцированных N-метилнитрозомочевинной или диэтилнитрозоамином (ДЭНА). Препараты удлиняли также латентный период возникновения опухолей и увеличивали среднюю продолжительность жизни животных. ЭС, ЭШ, ЭТ и РЛК уменьшали число хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мышей и крыс, индуцированных циклофосфаном или ДЭНА. При этом сами экстракты при длительном введении животным не обладали мутагенным действием. ЭС, ЭШ, ЭТ и РЛК после постоянного введения мышам BALB/c вместе с кормом в дозе 25 мг/кг через 4–6 недель увеличивали в 1,5–2,5 раза пролиферативную активность спленоцитов и образование Т-киллеров в смешанной культуре лимфоцитов селезенки аллогенных мышей. Препараты частично корректировали иммунодефицит у мышей BALB/c, индуцированный противоопухолевым цитостатиком аранозой. ЭС и РЛК уменьшали токсическое действие циклофосфана у мышей с лимфолейкозом Р-388 и повышали активность цитохром Р-450-зависимой монооксигеназы, уровень глюкуроновой кислоты в печени и уменьшали перекисное окисление липидов. ЭС, ЭШ и РЛК частично корректировали проявление токсикоза у крыс и мышей, индуцированного хроническим введением ацетата свинца, что проявлялось в снижении потери массы тела, увеличении продолжительности жизни, повышении количества гемоглобина и эритроцитов, уменьшении состояния иммунодепрессии.

Выводы. Новый лечебно-профилактический препарат РЛК, наряду с противовоспалительными, противовирусными и антимикробными свойствами, обладает также антиканцерогенной, антимуагенной и иммуномодулирующей активностью, что позволяет рассматривать его в качестве потенциального средства для химиопрофилактики ЗНО.

И.Г. Сивов¹, С.В. Альховский², Е.Ю. Рыбалкина³,
Е.И. Самохвалов², А.В. Щербakov⁴

НЕИНФЕКЦИОННЫЕ ВИРИОНЫ ВИРУСА ЯЩУРА КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ НОСИТЕЛИ ДЛЯ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ХТ

¹ООО «Агробιοмед», Боровск, Калужская область

²НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского Россоцзд-
рава, Москва

³РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

⁴ФГУ «Федеральный центр охраны здоровья жи-
вотных» МСХ РФ, Юрьево, Владимирская область

Задачи исследования. Исследовали условия на-
полнения вирионов вируса ящура, лишенных РНК
(ВПЧЯ), Актиномицином D и цитостатическую ак-
тивность препарата на клетки линии MCF7 (PMЖ,
коллекция НИИ канцерогенеза РОНЦ).

Материалы и методы. ВПЧЯ получали в соответ-
ствии с производственным регламентом. Очищенный
препарат обезвоживали в условиях диссоциации ви-
риона на пентамеры, затем проводили реассоциацию
ВПЧЯ* из пентамеров. На 1 реассоциации очищенный
препарат частиц наполняли 1мМ раствором антибио-
тика (ВПЧЯ+D). Процессы перехода контролировали
методами электрофореза в 1,5% агарозе, ультрацен-
трифугирования, электронной, конфокальной и флуо-
ресцентной микроскопии. Концентрацию антибиотика
в пробах, взятых на разных этапах переходных процес-
сов, контролировали методом масс-спектрологии.
Гибель клеток оценивали по тесту с МТТ.

Результаты и выводы. ВПЧЯ ($\rho = 1,37 \text{ г/см}^3$) «не-
проницаемы» для молекулы Актиномицина D. Разрабо-
таны условия перехода пентамеры→ВПЧЯ* в присутст-
вии антибиотика, когда процент перехода достигал 85%
(ВПЧЯ+D). Показали, что плавучая плотность, морфо-
логия и сорбция на клетках линии MCF7 (обладают спе-
цифическим для сорбции вируса ящура интегринавым
рецептором, $\alpha\beta 3$) у ВПЧЯ, ВПЧЯ* и ВПЧЯ+D практи-
чески одинакова. В смеси клеток линии MCF7 и СНО
(соотношение 1:1000 соответственно), все три вида час-
тиц «не меняли мишень» – сорбция происходила лишь
на клетках MCF-7, а при использовании ВПЧЯ+D кон-
центрация антибиотика в среде инкубации лишь через
сутки достигала уровня, оказывающего цитостатическое
действие на клетки линии СНО. Полученные результаты
позволяют сделать вывод о подобию изученных харак-
теристик ВПЧЯ, ВПЧЯ* и ВПЧЯ+D и рассматривать ме-
тодическую платформу получения ВПЧЯ+D как пер-
спективную для ХТ и специфической доставки препара-
та к клеткам-мишеням.

З.С. Смирнова, К.В. Ермакова,
Ю.В. Родионова, И.Ю. Кубасова,
Л.М. Борисова, М.П. Киселева, Н.А. Оборотова

ОТЕЧЕСТВЕННЫЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ПРЕПАРАТЫ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ГЛИОМ КРЫС

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

На современном этапе развития нейроонкологии
наиболее эффективно комбинированное лечение

злокачественных глиом, важным компонентом ко-
торого является химиотерапия.

Цель исследования. Оценка эффективности хи-
миотерапии злокачественных глиом с использовани-
ем отечественных химиопрепаратов в сравнении с
наиболее эффективными известными препаратами.

Материалы и методы. Работа выполнена на трех
интракраниально перевиваемых моделях опухолей
головного мозга крыс: глиоме С6, анапластической
эпендимоме (АЭ) 14-4-4 и глиобластоме 101/8. Изу-
чалась эффективность Лизомустина, Аранозы и Кор-
тифена в сравнении с Цисплатином, АСNU и Темода-
лом. Критерием эффективности служило увеличение
продолжительности жизни (УПЖ, %) опытных крыс
по сравнению с контрольными животными.

Результаты. На глиоме С6 установлена высокая
эффективность Лизомустина в сравнении с Темода-
лом: УПЖ составляет 68 % и 26 % соответственно.
АЭ 14-4-4 оказалась чувствительной лишь к Корти-
фену: УПЖ самцов составляет 134 %, а самок – 190
%. Чувствительность глиобластомы 101/8 к химиоп-
репаратам различна. Наименее эффективными ока-
зались Араноза и Темодал (УПЖ составляет 64 % и
54 % соответственно). При использовании осталь-
ных химиотерапевтических агентов, наблюдается
как излечение части крыс, так и высокое УПЖ оста-
вшихся животных. Так, после химиотерапии с Ли-
зомустином УПЖ составляет 83 %, а излечение дос-
тигнуто в 37,5 % случаев, после химиотерапии с
Цисплатином эти показатели составили 125 % и 20
% соответственно, а с АСNU – 244 % и 44 % соот-
ветственно. Эффективность Кортифена на глиобла-
стоме 101/8 зависела от пола животных. После хи-
миотерапии самок с глиобластомой 101/8 излечено
44 % животных, а УПЖ составляет 213 %, а самцов
– 33 % и 144 % соответственно.

Заключение. Таким образом, установлено, что
более злокачественная глиобластома 101/8 более
чувствительна к химиотерапии, чем менее злокаче-
ственные глиомы С6 и анапластическая эпендимомы
14-4-4. На глиобластоме 101/8 показана высокая
эффективность отечественных химиотерапевтиче-
ских препаратов Лизомустина и Кортифена, а так-
же Цисплатина при сравнении с эффективностью
Темодала и АСNU.

А.П. Смирнова, Л.П. Сушинина, С.В. Устинкина,
В.Н. Осипов, Л.И. Смирнова, А.П. Будько,
З.С. Шпрых, И.В. Ярцева, Е.В. Игнатова
**ЦИФЕТРЕЛИН: ОПТИМИЗАЦИЯ
И МАСШТАБИРОВАНИЕ СИНТЕЗА
РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН**

Введение. Цифетрелин – аналог гипоталамиче-
ского гормона соматостатина, синтезирован в лабо-
ратории химического синтеза РОНЦ им. Н.Н. Бло-
хина РАМН. По результатам изучения противоопу-
холевой активности препарат рекомендован для
широких доклинических исследований, что потре-
бует синтеза большого количества активной фар-
мацевтической субстанции Цифетрелина.

Цель исследования. Оптимизация и масштаби-
рование синтеза Цифетрелина.

Материалы и методы. Синтез пептидов осуще-
ствляли классическими методами пептидной химии
в условиях, сводящих возможность рацемизации
отдельных аминокислот к минимуму. При синтезе
фрагментов пентапептида использовали метод сме-
шанных ангидридов. Для защиты α -аминогрупп на
всех стадиях синтеза применяли трет-бутилоксикар-
бонильную 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 защищенного пентапептида проводили с использованием колоночной хроматографии. Хроматографическое исследование Цифтрелина в тонких слоях сорбента проводили на пластинках Silifol UV254 в различных системах растворителей. Обнаружение веществ проводили, обрабатывая хроматограммы парами йода и 0,5 % раствором нингидрина в этаноле. Удельное вращение измеряли на поляриметре «Unipol L», количественное определение основного вещества проводили методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе HP 1050 фирмы «Хьюлетт-Паккард» США.

Результаты. Синтез Цифтрелина – пентапептида $\text{Woc-Cys(Thp)-Phe-D-Trp-Lys(Z)-Thr-OMe}$ осуществляли постепенным наращиванием пептидной цепи, начиная с С-концевой аминокислоты треонина. На последней стадии синтеза использовали аминокислоту цистеин, предварительно защищенную по функциональным группам. При защите SH-группы цистеина тетрагидропиранильной группировкой появляется второй ассиметрический центр. Образующуюся при этом смесь изомеров защищенного цистеина делили на индивидуальные соединения раскristализацией с помощью солей щавелевой кислоты. Разделение контролировали измерением углов вращения и ВЭЖХ. В синтезе Цифтрелина использовали только один изомер цистеина с положительным значением угла вращения. Нами проведен синтез пентапептида с изомером цистеина с отрицательным значением угла вращения и показана его противоопухолевая активность полностью идентичная активности Цифтрелина. Это позволило нам исключить из синтеза трудоемкую стадию разделения изомеров цистеина. Отработан методика получения стандартного защищенного цистеина с заданным углом вращения и временем удерживания в системе ВЭЖХ. На основе защищенного цистеина получены стандартные лабораторные серии активной фармацевтической субстанции Цифтрелина в количествах, необходимых для широких доклинических исследований. Химико-фармацевтический анализ серий, полученных при масштабировании, показал их соответствие критериям качества проекта ФСЦП.

Выводы. Проведено масштабирование метода химического синтеза аналога гипоталамического гормона соматостатина Цифтрелина, позволившее получить препарат в количествах, необходимых для проведения его доклинических исследований в полном объеме.

Э.Ш. Соломко, Е.В. Степанова,

С.Н. Лавренев, М.Н. Преображенская

ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ СОЕДИНЕНИЙ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ ТРИАРИЛМЕТАНОВ НА КУЛЬТУРАХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАМН, Москва

Цель исследования. Изучение специфической (цитотоксической, апоптотической и т.д.) активности соединений гетероциклических триарилметанов на клеточных линиях РМЖ, яичников, меланомы и лейкоза человека.

Материалы и методы. В научно-исследовательском институте по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАМН было синтезировано 30 соединений гетероциклических триарилметанов. Все они относятся к 4 основным группам: трииндолилметаны, 3,3-дииндолил-

оксиндолы, соли три(1-алкилиндоллил)метилия, эфиры трииндолилуксусной кислоты. В работе были использованы следующие клеточные линии: Jurkat, SK-BR-3, MCF-7, SKOV-3, Mel-Kor, SVEC-4-10, а также мононуклеары здоровых доноров. Для экспериментов использовались клетки, находящиеся при конfluence 70–80 %. Изучены следующие виды активности: цитотоксическая, апоптотическая, антиинвазивная и антимиграционная, а также способность ингибировать образование активной формы белка NFkB.

Результаты. Использование полного спектра методов определения противоопухолевой активности позволило эффективно оценить активность синтезированных веществ на культурах опухолевых клеток. В исследованиях *in vitro* было показано, что данный класс соединений обладает цитотоксическим действием, вызывая гибель различных клеточных линий опухолей человека (рак молочной железы (SK-BR-3, MCF-7), яичников (SKOV-3), меланомы (Mel Kor), лейкоза (Jurkat)) путем индукции апоптоза. Среди изученных соединений 4 (13,3 %) показали высокую цитотоксичность на клеточных линиях опухолей человека, особенно меланомы. Показана зависимость структура – активность. Средние значения IC_{50} уменьшались с увеличением числа атомов в неразветвленном алкильном заместителе от N-метил- до N-бутил- и 1-пентил- производных. При этом препараты в широком диапазоне доз блокируют образование активной формы белка NFkB.

Выводы. Таким образом, разработанный в ходе выполнения работы новый класс гетероциклических триарилметанов является перспективным для дальнейшего изучения.

Работа поддержана Министерством образования и науки РФ (государственный контракт 02.512.12.2035).

Е.В. Тазина, А.П. Положкова, Е.В. Игнатьева,
О.Л. Орлова, С.А. Партолина, Ю.В. Родионова,
Н.А. Оборотова

ОПТИМИЗАЦИЯ СОСТАВА ТЕРМОЛИПОСОМАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ДОКСОРУБИЦИНА

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Введение. Использование термочувствительных липосом для селективной доставки доксорубина в опухоль – одно из перспективных направлений в химиотерапии злокачественных новообразований. Для увеличения избирательности действия цитостатика в РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН разработана термочувствительная липосомальная лекарственная форма доксорубина, используемая в комбинации с локальной гипертермией (40–43 °C).

Цель исследования. Получение лиофилизированной термолипосомальной лекарственной формы доксорубина с оптимальным содержанием действующего вещества во флаконе, необходимого для приготовления терапевтической дозы препарата.

Материалы и методы. Термолипосомы (ТЛ) получали методом обращения фаз из 1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-фосфохолина (DPPC), 1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфохолина (DSPC) фирмы Lipoid (Германия), пегилированного 1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфэтаноламина (DSPE-PEG-2000) и холестерина (Avanti Polar Lipids, Inc., США) в молярном соотношении 9:1:0,02:0,2. ТЛ измельчали через поликарбонатные мембраны при 50 °C с помощью экструдера. Доксорубин (Докс) загружали в везикулы против градиента сульфата аммония.

Весовое соотношение препарат : суммарные липиды составило 0,17:1, общая концентрация липидов в дисперсии – 12,6 мг/мл, концентрация Докс в дисперсии – 2,1 мг/мл. Для стабилизации Докс-ТЛ проводили их сублимационную сушку с использованием в качестве криопротектора 4% раствора сахарозы. Диаметр везикул измеряли на приборе Nicomp-380 Submicron Particle Sizer (США). Докс-ТЛ очищали от невключившегося препарата методом гель-фильтрации на хроматографической колонке С 10/20, заполненной сефадексом G-50 (Amersham Biosciences, Швеция). Содержание Докс в ТЛ определяли спектрофотометрически.

Результаты. Получена лиофилизированная термочувствительная липосомальная лекарственная форма Докс с размером частиц 176 ± 10 нм, включением цитостатика в везикулы 84,4 % и содержанием действующего вещества во флаконе 10 мг.

Выводы. Благодаря увеличению концентрации липидов и Докс в исходной дисперсии ТЛ, а также модификации методики получения везикул удалось достичь оптимального содержания Докс во флаконе (10 мг), необходимого для приготовления терапевтической дозы препарата.

*И.Д. Трещалин, Э.Р. Переверзева,
Д.А. Бодягин, М.И. Трещалин*

ДОКЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ГИПЕРТЕРМИИ НА ТОКСИЧНОСТЬ ДОКСОРУБИЦИНА

НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАМН, Москва

Цель исследования. Оценить влияние ультразвуковой гипертермии (УЗГТ) на токсичность доксорубина.

Материал и методы. За 3 ч до УЗГТ-воздействия крысам Wistar, самкам, внутривенно вводили доксорубин (ДОКС) в дозе 1,5 мг/кг. УЗГТ 41,5 °С бедренной мышцы крыс производили при помощи установки локальной ультразвуковой гипертермии (УЗГТ) с 2 полей (0,88 и 2,64 МГц). Процедуру проводили ежедневно в течение 3 дней. Группы положительного контроля получали УЗГТ или ДОКС в тех же режимах и дозах.

На 1, 3, 5, 7, 15 и 30 сутки после курса проводили гематологическое исследование периферической крови, на 3, 15 и 30 сутки исследовали биохимические показатели сыворотки крови. На 3, 15 и 30 сутки после курса у животных снимали ЭКГ.

На 3 и 30 сутки по 5 животных из группы забивали. При вскрытии проводили макроскопическую оценку органов, определяли их массовые коэффициенты. Все полученные данные обрабатывали статистически с использованием критерия «t» Стьюдента.

Результаты. УЗГТ-воздействие не влияло на общее количество лейкоцитов, эритроцитов, тромбоцитов, гемоглобина и биохимические показатели сыворотки крови.

Токсические свойства ДОКС проявились в виде лейкоцитопении и незначительной тромбоцитопении, МК селезенки и тимуса уменьшались.

Биохимические показатели сыворотки крови не изменялись. На 30 сутки после курса МК сердца увеличивались, остальные показатели возвращались к норме. ДОКС уже с 15 суток наблюдения вызывал тахикардию и увеличение интервала QT %. К 30 суткам эти изменения усиливались.

Комбинированное применение ДОКС с УЗГТ вызывало снижение общего количество лейкоцитов, эритроцитов, тромбоцитов и гемоглобина в тех же

пределах, что и под воздействием одного ДОКС. Выявлено уменьшение МК тимуса и селезенки на 3 сутки после курса и увеличение МК сердца на 30 сутки после курса.

Применение УЗГТ не усиливало кардиотоксических свойств ДОКС: изменения ЭКГ были такими же и развивались в те же сроки наблюдения. В области воздействия макроскопически местно-тканевых реакций не выявлено.

Выводы. Проведенное клинико-лабораторное исследование показало, что применение УЗГТ не усиливает токсического действия ДОКС.

*И.Д. Трещалин, Э.Р. Переверзева,
Д.А. Бодягин, М.И. Трещалин*

ДОКЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ГИПЕРТЕРМИИ (УЗГТ) НА ТОКСИЧНОСТЬ ЦИСПЛАТИНА

НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАМН, Москва

Цель исследования. Оценить влияние УЗГТ на токсичность цисплатина.

Материал и методы. За 3 ч до УЗГТ-воздействия крысам Wistar, самкам, в/в вводили цисплатин «ТЕ-ВА» (ЦП) в дозе 2,5 мг/кг. УЗГТ 41,5 °С бедренной мышцы крыс производили при помощи установки локальной ультразвуковой гипертермии (УЗГТ) с 2 полей (0,88 и 2,64 МГц). Процедуру проводили ежедневно в течение 3 дней.

Группы положительного контроля получали УЗГТ или ЦП в тех же режимах и дозах. На 1, 3, 5, 7 и 15 сутки после курса УЗГТ проводили гематологическое исследование периферической крови, на 3 и 5 сутки исследовали биохимические показатели сыворотки, определяли суточный диурез крыс и производили клинический анализ мочи.

На 3 и 15 сутки после курса облучения животных забивали. При вскрытии проводили макроскопическую оценку органов, определяли их массовые коэффициенты. Все полученные данные обрабатывали статистически с использованием критерия «t» Стьюдента.

Результаты. УЗГТ-воздействие не влияло на общее количество лейкоцитов, эритроцитов, тромбоцитов, гемоглобина, биохимические показатели сыворотки крови и анализы мочи. Токсические свойства ЦП проявились в виде лейкоцитопении и нейтропении, МК селезенки и тимуса уменьшались.

Содержание мочевины и креатинина в сыворотке крови увеличивалось, в моче появлялись эритроциты, лейкоциты, белок и цилиндры, МК почек увеличивались. К концу наблюдения белок в моче сохранялся, остальные показатели не отличались от контроля.

После комбинированного применения ЦП с УЗГТ было отмечено снижение количества лейкоцитов, нейтрофилов, повышение содержания мочевины и креатинина в сыворотке крови, в моче были выявлены единичные эритроциты, лейкоциты, гиалиновые цилиндры и белок.

МК почек увеличивались, МК тимуса и селезенки уменьшались в той же степени, что и при применении цисплатина, в монорежиме.

К 15 суткам после окончания курса воздействий белок в моче сохранялся, остальные показатели не отличались от контроля. При макроскопическом исследовании области воздействия местно-тканевых реакций не выявлено.

Выводы. Проведенное клинико-лабораторное исследование показало, что применение УЗГТ не усиливает токсического действия цисплатина.

И.Д. Трещалин, Э.Р. Переверзева,
Д.А. Бодягин, М.И. Трещалин

ДОКЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ГИПЕРТЕРМИИ НА ТОКСИЧНОСТЬ ИФОСФАМИДА

НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф.
Гаузе РАМН, Москва

Цель исследования. Оценить влияние ультразвуковой гипертермии (УЗГТ) на токсичность ифосфамида.

Материал и методы. За 3 ч до УЗГТ-воздействия крысам Wistar, самкам, внутривенно вводили ифосфамид ЛЕНС (ИФ) в дозе 150 мг/кг. УЗГТ 41,5 °С бедренной мышцы крыс производили при помощи установки локальной ультразвуковой гипертермии (УЗГТ) с 2 полей (0,88 и 2,64 МГц). Процедуру проводили ежедневно в течение 5 дней. Группы положительного контроля получали УЗГТ или ИФ в тех же режимах и дозах. На 1, 3, 5, 7 и 15 суток после курса проводили гематологическое исследование периферической крови, на 3 и 5 сутки регистрировали ЭКГ, исследовали биохимические показатели сыворотки крови, определяли суточный диурез и производили клинический анализ мочи. На 3 и 15 сутки после курса животных забивали. При вскрытии проводили макроскопическую оценку органов, определяли их массовые коэффициенты. Все полученные данные обрабатывали статистически с использованием критерия «t» Стьюдента.

Результаты. УЗГТ-воздействие не влияло на общее количество лейкоцитов, эритроцитов, тромбоцитов, гемоглобина и биохимические показатели сыворотки крови. Токсические свойства ИФ проявлялись в ранние сроки наблюдения в виде лейкоцитопении и нейтропении, что сопровождалось достоверным уменьшением МК селезенки и тимуса. К концу наблюдения МК этих органов не отличались от контроля. После комбинированного применения ИФ и УЗГТ на ранних сроках наблюдения было отмечено снижение количества лейкоцитов и тромбоцитов. МК тимуса и селезенки уменьшались в той же степени, что и при применении ИФ в монорежиме. К 15 сут. после окончания курса воздействий все перечисленные показатели восстанавливались до уровня физиологической нормы и не отличались от контроля. Биохимические показатели сыворотки крови, анализы мочи и ЭКГ не изменялись на всем протяжении опыта как при применении УЗГТ или ИФ в монорежиме, так и при их комбинированном применении. При макроскопическом исследовании области воздействия местно-тканевых реакций не выявлено.

Выводы. Проведенное клинко-лабораторное исследование показало, что применение УЗГТ не усиливает токсического действия ифосфамида.

В.А. Тронов¹, Д.Н. Артамонов², М.Е. Абрамов³, Л.Б. Горбачева², Д.Б. Корман²

МОЛЕКУЛЯРНО-КЛЕТОЧНЫЕ МАРКЕРЫ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ БОЛЬНЫХ МЕЛАНМОЙ КОЖИ КАК ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ ПОКАЗАТЕЛЬ КЛИНИЧЕСКОГО ОТВЕТА НА ХТ

¹Институт химической физики им. Н.Н.Семенова
РАН, Москва

²Институт биохимической физики им. Н.М. Эммануэля
РАН, Москва

³РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Задачи исследования. Ведущее место среди терапевтических процедур, применяемых при меланоме, занимает цитотоксическая химиотерапия. Монофункциональные алкилирующие агенты (дакарбазин, прокарбазин) и нитрозомочевины (кармустин и ломустин) входят

в распространенные протоколы химиотерапии меланомы. Частота положительного ответа больных не превышает 20 %. Поиск маркеров, позволяющих прогнозировать индивидуальную устойчивость/чувствительность больных к химиотерапии является одной из экспериментальных стратегий повышения ее эффективности. Ранее мы показали, что высокая функциональная активность коррекционной репарации ДНК (MMR) в лимфоцитах больных меланомой кожи в ответ на ломустин-дакарбазин-цисплатин-гамма интерферон протокол химиотерапии прямо коррелировала с положительным ответом больных на химиотерапию. У больных с высокой активностью MMR наблюдалась также высокая цитотоксичность химиотерапии. Полученный результат говорит о том, что определение этих показателей лимфоцитов больных в ответ на терапию на начальном ее этапе (первый цикл) может прогнозировать клинический ответ больного на полный курс лечения (более 6 циклов). В настоящей работе мы исследовали корреляцию между ответом лимфоцитов больного на химиотерапию и ответом лимфоцитов этого больного на тест-воздействие метилнитрозомочевинной (МНМ) *in vitro*.

Методы. Осуществляли мониторинг накапливающихся изменений в ходе 6 циклов монохимиотерапии дакарбазин-цисплатин-гамма интерферон протокол химиотерапии одного больного десименированной меланомой кожи. На лимфоцитах, взятых у больного до начала очередного цикла терапии, определяли ответ на воздействие МНМ *in vitro*. На лимфоцитах, взятых у больного сразу по завершении очередного цикла, оценивали ответ на дакарбазин-терапию. Аккумулированный ответ лимфоцитов по мере увеличения числа циклов терапии регистрировали по повреждению ДНК в клетках (метод ДНК-комет), по экспрессии белков MLH1, MSH2, FasR (метод иммуноцитохимии) и по цитотоксическому эффекту, включающему в себя долю погибших клеток и индекс индуцированной ФГА пролиферации *in vitro*.

Результаты. Показано, что с увеличением числа циклов ХТ в лимфоцитах накапливаются повреждения ДНК. Максимум поврежденности приходится на 5 цикл. После 6 цикла уровень повреждений в ДНК снижается до контрольного. Наблюдалась сходная динамика изменения экспрессии белков MLH1+MSH2, с максимальным значением на 5 цикле терапии. Уровень экспрессии FasR в ответ на терапию линейно возрастал до 7 цикла. Индекс индуцированной пролиферации монотонно падал до 5 цикла и далее не изменялся. Доля погибших клеток по мере возрастания циклов ХТ не изменялась по сравнению с контролем до 5 цикла, и возрастала на 6 цикле. В ответ на воздействие МНМ все параметры лимфоцитов изменялись точно таким же образом.

Закключение. Сходство динамики изменения исследуемых параметров в ходе ХТ и тест-воздействия МНМ говорит о сходстве механизмов гено- и цитотоксических эффектов лимфоцитов в ответ на монотерапию дакарбазин-цисплатин-гамма интерферон протокол химиотерапии и воздействие МНМ. Однако это сходство не является достаточным для окончательного вывода о значимости параметров ответа лимфоцитов *in vitro* при прогнозировании клинического ответа.

И.И. Файнгольд, Р.А. Котельникова,
А.И. Котельников, Н.П. Коновалова, Е.Н. Берсенева,
Д.А. Полетаева, И.Е. Кареев, В.П. Бубнов,
Е.Б. Ягубский, В.Е. Мурадян

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ГИДРОКСИПРОИЗВОДНОГО ЭНДОЭНДРАЛЬНОГО МЕТАЛЛОФУЛЛЕРЕНА

Институт проблем химической физики РАН, Московская область, Черноголовка

Эндоэндральные металлофуллерены, содержащие внутри углеродного каркаса парамагнитные атомы

металлов, представляют интерес для различных областей химии, физики, биологии и медицины.

Задачи исследования. Исследование противоопухолевой активности гидроксипроизводного эндоэдрального металлофуллерена $Gd@C_{82}(OH)_x$ (ЭМФ).

Материалы и методы. Опытные животные – мыши линии BDF₁. Исследования проводили на опухолевых штаммах: лейкемия P388, аденокарцинома молочной железы Ca755. ЭМФ вводили внутривенно в дозе 2×10^{-7} моль/кг с 1 по 7 сутки при терапии лейкемии P388. Монотерапию в отношении Ca755 проводили внутривенным введением ЭМФ с 1 по 7 сутки в дозе 2×10^{-6} моль/кг. Контрольным животным тестируемое соединение не вводилось.

Результаты. Монохимиотерапия ЭМФ в исследуемых малых дозах не оказывает противоопухолевого эффекта на лейкемию P388. Терапия ЭМФ в отношении модели Ca755 приводила к ингибированию роста опухолевого узла на 35 %. Нами было показано, что производные фуллерена сорбируются в злокачественных опухолях. При исследовании влияния ЭМФ на Ca^{2+} -активируемую- Mg^{2+} -зависимую АТФазу саркоплазматического ретикула (Са-АТФазу СР) обнаружено, что это соединение ингибировало гидролиз АТФ и активный транспорт Ca^{2+} через мембрану СР. Полученный результат позволяет предположить, что противоопухолевая активность ЭМФ связана с нарушением транспорта веществ, необходимых для развития опухолевого процесса. Установлено, что ЭМФ не токсичен в дозе 1000 мг/кг.

Выводы. Полученные в работе результаты свидетельствуют о перспективности дальнейшего исследования противоопухолевой активности гидроксипроизводных эндоэдральных металлофуллеренов в более высоких терапевтических дозах.

В.Л. Филинов, А.М. Сдвижков, В.И. Борисов
ФДТ БОЛЬНЫХ МЕЛАНОМОЙ КОЖИ
Онкологический клинический диспансер № 1, Москва

Цель исследования. Изучение лечебной эффективности и безопасности фотодинамической терапии (ФДТ) у больных меланомой кожи.

Материалы и методы. ФДТ проведена 13 больным с морфологически верифицированной первичной меланомой кожи в стадии T2-4,Nx,M0. Возраст больных от 67 до 86 лет. Опухоли были размером от 1,5 до 4 см.: в 8 случаях плоские, в 5 случаях экзофитные. Локализация опухолей: кожа головы, тела. Всем больным было отказано в хирургическом лечении в связи с выраженной сопутствующей патологией. ФДТ проводилась с использованием фотосенсибилизатора Фотосенс (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК») в дозе 0,4–0,5 мг/кг. Применялось лазерное облучение длиной волны 670 нм, дистанционное и неинвазивное контактное (Патент №2275945). Амбулаторный курс лечения в среднем составил 7 дней. ФДТ проведена 32 больным с метастазами меланомы в кожу. Возраст больных от 41 до 84 лет. Всем больным ранее проведено хирургическое лечение – иссечение первичной опухоли. В связи с выявленными метастазами больным проводилась по показаниям химио- и (или) иммунотерапия. ФДТ проведена в связи неэффективностью проводимой терапии. Опухоли внутрикожные и подкожные размером от 0,3 до 2 см были множественными и локализовались в области головы, туловища, конечностей. ФДТ проводилась с использованием фотосенсибилизатора Фотосенс в дозе 0,3–0,5 мг/кг и лазерного облучения длиной волны 670 нм. Применялось дистанционное и неин-

вазивное контактное облучение. Амбулаторный курс лечения в среднем составил 7–8 дней.

Результаты. В случае первичной меланомы кожи полный терапевтический эффект – полная регрессия опухоли имелась в 85 % случаев, частичная – в 15 % случаев. У 11 больных с полной регрессией опухоли после ФДТ сроки наблюдения составили: до 1 года – 5 больных, до 2 лет – 3 больных, до 3 лет – 1 больной, до 4 лет – 1 больной, до 5 лет – 1 больной. При проведении ФДТ осложнений и обострения сопутствующей патологии у больных не было. В случае внутрикожных и подкожных метастазов меланомы полный терапевтический эффект – полная регрессия опухолей имелась в 31 % случаев, частичная – в 44 % случаев, в 25 % случаев имелась стабилизация процесса. У 10 больных с полной регрессией метастатических опухолей сроки наблюдения составили: 8 лет – 1 больная, 7 лет – 1 больная, 4 года – 1 больная, 2 года – 2 больных, до 1 года – 5 больных. Длительность ремиссии при частичной регрессии составила от 6 до 45 мес. (в среднем 10 мес.). Длительность ремиссии в случае стабилизации процесса составила от 2 до 6 мес. (в среднем 4 мес.). Осложнений при проведении ФДТ не было.

Выводы. ФДТ с использованием методик дистанционного и неинвазивного контактного лазерного облучения и фотосенсибилизатора Фотосенс является эффективным методом в лечении больных меланомой кожи.

¹Филоненко Д.В., ¹Бычков М.Б., ¹Горбунова В.А.,
¹Зимакова Н.И., ¹Колесникова Е.Ю., ¹Дейчман З.Г.,
¹Трещалина Е.М., ¹Герасимова Г.К., ²Калия О.Л.

**РЕЗУЛЬТАТЫ 1 ФАЗЫ
КЛИНИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ
БИНАРНОЙ КАТАЛИТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ
ТЕРАФТАЛ + АСКОРБИНОВАЯ КИСЛОТА
У БОЛЬНЫХ С ОПУХОЛЕВЫМ ПЛЕВРИТОМ**

¹РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва
²ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Москва

Введение. Одним из новых подходов для внутриплевральной терапии опухолевых плевритов (ОП), основанном на создании искусственного плевродеза, является применение бинарной каталитической системы (БКС) терафтал+аскорбиновая кислота (ТФ+АК). Отечественный препарат ТФ (натриевая соль окта-4,5-карбоксифталоцианина кобальта) является катализатором окисления различных биогенных восстановителей, в частности, АК. В основе плевросклерозирующего действия БКС лежит способность ТФ катализировать окисление АК при соотношении молярных концентраций ТФ:АК=1:10 в водных растворах при физиологических значениях pH и температуры с образованием активных форм кислорода и гидроперекиси. Фармакокинетические параметры ТФ при внутриплевральном введении свидетельствуют о том, что основная часть препарата задерживается в плевральной полости, при этом максимальные концентрации его в плазме крови в 5 раз ниже по сравнению с внутривенным введением в равной дозе. Это подтверждает наличие высокой местной концентрации и существенное снижение поступления ТФ в органы и ткани, что определяет высокую избирательную эффективность и низкую токсичность БКС при внутриплевральном введении. Обоснованием клинической апробации БКС стали результаты доклинического изучения, в рамках которого доказана ее эффективность на моделях экспериментальных ОП и безвредность на здоровых животных.

При клиническом исследовании по Протоколу №2-ОП/2004 первичной целью стала оценка безопасности, вторичной – оценка эффективности БКС при внутриплевральном введении пациентам с ОП.

Материалы и методы. В исследование включено 10 больных с ОП, осложнившим течение различных злокачественных опухолей. Терафтал-ЛИО во флаконах по 50 мг получали их лаборатории разработки лекарственных форм НИИ ЭДито РОНЦ. Перед введением содержимое флакона ТФ растворяли в 0,9% растворе натрия хлорида до 0,5% концентрации, АК вводили в 5% или 10% аптечном растворе. С учетом рекомендованной токсикологами эскалации дозы ТФ по модифицированному методу Фибоначчи стартовые дозы составили, соответственно для ТФ 98,7 мг/м², для АК - 217,14 мг/м². Лечебный цикл включал внутриплевральное однократное струйное последовательное введение ТФ и АК с предшествующим и последующим дренированием плевральной полости, в которой дренаж оставался в течение 1-3 суток. Местную анестезию проводили при помощи внутриплеврального введения 30-40 мл 0,5% раствора новокаина. Для профилактики реакции гиперчувствительности за 30 мин до инфузии ТФ проводили премедикацию дексаметазоном в дозе 20 мг внутримышечно.

Результаты. При изучении безопасности показано, что БКС не вызывает каких-либо побочных эффектов при внутриплевральном введении в дозах, составляющих 250% от стартовой дозы каждого препарата: ТФ < 246,75 мг/м², АК < 542,85 мг/м². При дозах равных или более указанных зарегистрированы: слабо выраженные и непостоянные умеренная гипотония (10%) и лихорадка до 38,5°C (20%); дозозависимый болевой синдром в области грудной клетки в первые часы после введения в 70% случаев; при всех дозах слабая кратковременная окраска мочи в синий цвет без негативной реакции у пациентов (100%). При оценке эффективности лечения у всех больных, получавших внутриплеврально ТФ и АК в дозах, составляющих 100-450% от стартовой, отмечен объективный эффект в виде частичной регрессии (80%), у остальных 20% пациентов наступило прогрессирование ОП.

Заключение. У пациентов с опухолевым плевритом при клиническом изучении безопасности БКС в режиме однократного внутриплеврального введения в дозах ТФ < 246,75 мг/м² и АК < 542,85 мг/м² не выявлено препятствий для продолжения изучения. Для проведения II фазы рекомендованные дозы составляют: ТФ 250 мг/м², АК 540 мг/м². Дозолимитирующей токсичностью можно считать болевой синдром в области грудной клетке, для профилактики которого рекомендовано внутримышечное введение 1,0 мл 2% промедола за 15-20 мин до начала введения препаратов. В настоящее время получено разрешение МЗиСР РФ и начала II фаза изучения эффективности бинарной каталитической системы терафтал + аскорбиновая кислота при опухолевом плеврите.

А.А. Фильченков¹, М.П. Завелевич¹, В.Б. Вайзер³,
Н.В. Поспелова², М.В. Нехорошев²

ФУКОКСАНТИН И ФУКОКСАНТИНОЛ – ПРИРОДНЫЕ КАРОТИНОИДЫ С ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТЬЮ

¹Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии НАН Украины, Киев

²Институт биологии южных морей НАН Украины, Севастополь

³Университет им. Бен-Гуриона, Беер-Шева, Израиль

За последние годы выросло количество публикаций, посвященных изучению биологических свойств фукокс-

сантина – каротиноида из бурых водорослей. Показано торможение фукоксантином роста ряда линий опухолевых клеток *in vitro* и продемонстрирована противоопухолевая активность фукоксантина и фукоксантинола на моделях солидных опухолей у мышей.

Цель исследования. Выделение из черноморской бурой водоросли цистозир каротиноидов фукоксантина и фукоксантинола, их получение в кристаллическом состоянии и изучение апоптотической и апоптоз-модулирующей активности фукоксантина на прививаемых линиях злокачественных лимфоидных клеток человека.

Результаты. Кристаллические препараты фукоксантина и фукоксантинола были получены из цистозир. Их структура была подтверждена методами NMR и HPLC. Полученный препарат фукоксантина состоит на 93,4 % из транс-изомера и на 6,6 % из цис-изомера. Фукоксантин индуцировал апоптоз в линиях злокачественных лимфоидных клеток человека MT-4, Jurkat (острый Т-лимфобластный лейкоз), Namalwa (лимфома Беркита). Апоптотическая составляющая гибели клеток при действии препарата фукоксантина была сравнительно невелика, и содержание гиподиплоидных клеток в разных культурах при действии фукоксантина варьировало от 15 до 24 %. Индукция апоптоза сопровождалась активацией каспазы-3 при незначительной задержке клеточного цикла в фазе G₀/G₁. Предварительная инкубация клеток MT-4 с фукоксантином в дозе, не вызывающей апоптоз, приводила к усилению апоптотического эффекта этопозиды. Эффективные действующие концентрации фукоксантина составляли порядка 1–2 мкмоль/л и были меньшими в сравнении с такими для препаратов фукоксантина, применяемых в работах других авторов.

Выводы. Из черноморской бурой водоросли цистозир получены в кристаллическом виде каротиноиды фукоксантин и фукоксантинол. Фукоксантин проявляет цитотоксическую активность в отношении разнообразных линий злокачественных лимфоидных клеток человека. Цитотоксический эффект фукоксантина частично обусловлен индукцией в клетках апоптоза.

А.А. Фильченков¹, М.П. Завелевич¹,
В.В. Семенов², М.Н. Семенова³

ИНДУКЦИЯ АПОПТОЗА И АКТИВАЦИЯ СИСТЕМЫ КАСПАЗ В КЛЕТКАХ ЛИНИИ JURKAT ПРИ ДЕЙСТВИИ ИНГИБИТОРОВ ПОЛИМЕРИЗАЦИИ ТУБУЛИНА

¹ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев

²Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва

³Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва

Введение. Как известно, цитотоксическое действие дестабилизаторов тубулина на опухолевые клетки реализуется через остановку клеточного цикла в фазе G₂/M и последующую активацию апоптоза. Однако молекулярные механизмы индукции апоптоза синтетическими ингибиторами полимеризации тубулина детально не изучены.

Цель исследования. Проанализировать активацию инициаторных и эффекторных каспаз (каспаза-2, -8, -9 и -3, -7 соответственно) в клетках Jurkat Т-лимфобластного лейкоза человека при действии подофилотоксина и его азааналога NMR/19217524.

Материалы и методы. В работе использовали подофилотоксин фирмы Aldrich, США. Азааналог подофилотоксина NMR/19217524 (чистота препарата не менее 98 %) был синтезирован в ИОХ РАН. Для выявления предшественников и активных форм каспаз применяли метод иммуноблоттинга.

Содержание клеток с гиподиплоидной ДНК, активной формой каспазы-3 и расщепленной формой PARP определяли с помощью цитофлуориметра FACSCalibur (Becton Dickinson, США).

Результаты. Исследуемый аналог и подофиллотоксин были в равной степени эффективными в отношении торможения роста, цитотоксического эффекта и индукции апоптоза в культуре клеток Jurkat. Величина EC₅₀ через 48 часов после внесения препаратов составляла порядка 25 нмоль/л, а замедление пролиферации клеток было очевидным уже в концентрации 5 нмоль/л. При действии подофиллотоксина и препарата NMR/19217524 на клетки Jurkat обнаруживается активация инициаторных каспаз-9 и -2, но не каспазы-8; в клетках выявляются также зрелые формы эффекторных каспаз-3 и -7. Увеличивается содержание клеток с расщепленной формой PARP – основного субстрата каспазы-3 и -7 (до 30 % в сравнении с 6 % в контроле). Прединкубация клеток Jurkat с панкаспазным ингибитором z.VAD.FMK приводит к снижению доли гиподиплоидных клеток при индукции апоптоза подофиллотоксином или NMR/19217524.

Выводы. Синтетический ингибитор полимеризации тубулина, как и подофиллотоксин, являются эффективными индукторами апоптоза в клетках Jurkat, ингибируемого панкаспазным ингибитором.

А.А. Фильченков, М.П. Завелевич
СРАВНЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ ИЗОКВЕРЦЕТИНА И КВЕРЦЕТИНА НА КЛЕТКИ JURKAT Т-КЛЕТОЧНОГО ЛЕЙКОЗА ЧЕЛОВЕКА
ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев

Введение. Многочисленные исследования биологических эффектов флавоноида кверцетина выявили его противоопухолевую активность. Но в растениях кверцетин содержится в виде гликозидов, чаще всего – это 3-О-гликозид кверцетина (изокверцетин). Изокверцетин содержит шестичленное пиранозное кольцо, связанное с С-кольцом. Влияние гликозилирования на эффекты кверцетина в отношении опухолевых клеток изучено недостаточно.

Цель исследования. Сравнить способность изокверцетина и кверцетина ингибировать пролиферацию, влиять на клеточный цикл и индуцировать каспазо-зависимый апоптоз в клетках Jurkat Т-лимфобластного лейкоза человека.

Материалы и методы. В работе использовали кверцетин и изокверцетин фирмы Merck & Co., Inc. (США) и Aldrich (США) соответственно. Клетки линии Jurkat (клон Е6-1), полученные из банка клеточных линий ИЭПОР, выращивали в стандартных условиях. Содержание клеток с гиподиплоидной ДНК, активной формой каспазы-3 и расщепленной формой белка PARP определяли с помощью цитофлуориметра FACSCalibur (Becton Dickinson, США).

Результаты. Исследуемый гликозид кверцетина был в равной степени эффективным в отношении торможения роста, цитотоксического эффекта и индукции апоптоза в культуре клеток Jurkat по сравнению с кверцетином. Величина EC₅₀ при 48-часовой инкубации составляла 60 мкмоль/л для кверцетина, а для изокверцетина она превышала 80 мкмоль/л. Изокверцетин вызывал увеличение содержания клеток в фазе G₀/G₁ в отличие от кверцетина, который инициировал существенный блок митотического цикла в фазе G₂/M. Развитие апоптоза при действии изокверцетина регистрировалось позднее, чем при действии эквимоллярных концентраций кверцетина, а именно, на 2-е сутки после инкубации в концентрациях 20–40 мкмоль/л. Каспазо-зависимый характер апоптоза под-

тверждался активацией в клетках Jurkat каспазы-3 и расщеплением ее специфического субстрата PARP.

Выводы. Гликозилирование кверцетина не влияет на его апоптогенную активность, по крайней мере в отношении исследуемой нами модели клеток Т-лимфобластного лейкоза человека, однако гликозилированный кверцетин не обладает способностью вызывать блок клеточного цикла в фазе G₂/M.

*А.А. Фильченков¹, М.П. Завелевич¹,
Н.Ю. Лукьянова¹, Д.Ю. Блохин²*
**ЭКСПРЕССИЯ МОЛЕКУЛ АДГЕЗИИ
В КЛЕТКАХ ПОЛИРЕЗИСТЕНТНОГО
КЛОНА JURKAT/A4**

¹ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев
²РОИЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Введение. Основным препятствием для лечения онкологических больных является развитие резистентности опухоли к лекарственной терапии. В последнее время активно исследуется роль молекул межклеточной адгезии опухолевых клеток в формировании плейотропной (т. е. многофакторной) резистентности.

Цель исследования. Сравнительный анализ уровня экспрессии молекул адгезии.

Е-кадгерина, интегринов CD11b и CD18, а также молекул межклеточного взаимодействия ICAM-1 (CD54), ICAM-3 (CD50) и NCAM (CD56) в клетках Jurkat/A4, обладающих фенотипом множественной лекарственной резистентности.

Материалы и методы. Клональная линия Jurkat/A4 получена в результате селективного культивирования клеток Jurkat в присутствии эффекторных моноклональных антител IPO4 к рецептору смерти CD95/Fas (патент РФ № 2267532). Клетки Jurkat получены из банка клеточных линий ИЭПОР НАНУ. Уровень экспрессии интегринов CD11b и CD18, молекул ICAM-1, ICAM-3 и NCAM определяли методом проточной цитофлуориметрии на цитометре FACSCalibur (BD, США), Е-кадгерин выявляли иммуноцитохимическим методом.

Результаты. При анализе двух линий клеток обнаружены значительные различия между ними в экспрессии ICAM-3 и NCAM. Антигенпозитивная по NCAM фракция Jurkat/A4 на 20–30 % превышает таковую в популяции исходной линии Jurkat, медиана интенсивности флуоресценции (MFI) и коэффициент вариации интенсивности сигнала данной фракции также значительно увеличиваются. Напротив, в популяции Jurkat/A4 не обнаруживается ICAM-3-позитивных клеток (MFI и гистограмма распределения окрашенных анти-CD50-антителами клеток Jurkat/A4 совпадает с неокрашенным контролем), составляющих около 100 % популяции Jurkat. Кроме того, наблюдается более выраженная реакция клеток Jurkat/A4 с антителами к Е-кадгерину. Статистически значимых различий в уровне экспрессии (доля антигенпозитивных клеток и гистограмма распределения) интегринов CD11b и CD18, а также антигена CD54 (ICAM-1) между клетками 2 линий не обнаружено. Характер роста обеих линий в культуре различен: для Jurkat свойствен рост в монокультурной суспензии, в то время как клетки клональной линии легко собираются в гигантские конгломераты, различимые визуально.

Выводы. Для клеток Jurkat/A4 с фенотипом множественной лекарственной резистентности характерно повышение уровня экспрессии молекул адгезии NCAM (CD56) и Е-кадгерина на фоне практически полного подавления экспрессии ICAM-3 (CD50) по сравнению с клетками родительской линии Jurkat.

Различий в уровне экспрессии интегринов CD11b и CD18 и антигена CD54 (ICAM-1) не выявлено. Возможно, изменение адгезионных свойств клеточной поверхности определяет характер транзитных межклеточных взаимодействий в условиях суспензионного роста культуры Jurkat/A4.

А.С. Халанский¹, Ш. Вольфарт², А. Бернройтер³, М. Глатцел³, Б.В. Рубцов¹, Л.И. Кондакова¹, И. Кройтер², О.О. Максименко⁴, Е.В. Шипуло⁴, Л.В. Ванчугова⁴, С.Э. Гельперина⁴

ПРОТИВООПУХОЛЕВОЕ ДЕЙСТВИЕ НАНОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ ДОКСОРУБИЦИНА НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНУЮ ГЛИОБЛАСТОМУ У КРЫС: ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА

¹НИИ морфологии человека РАМН, Москва

²Институт фармацевтической технологии, Университет им. И.В. Гете, Франкфурт-на-Майне, ФРГ

³Институт нейрпатологии, Университетский медицинский центр Гамбург-Эппендорф, Гамбург, ФРГ

⁴ООО «НПК «Наносистема», Москва

Цель исследования. Морфологическая оценка противоопухолевого эффекта наносомальной формы доксорубина на основе биodeградируемых полилактидных наночастиц, модифицированных полоксамером 188 (Докс-НЧ) в отношении глиомы 101/8, имплантированной интракраниально крысам.

Материалы и методы. Крысы самцы получали внутривенно доксорубин в растворе или в составе наночастиц на 2, 5 и 8 сутки после имплантации опухоли. Противоопухолевый эффект оценивали на 2, 6 и 10 сутки после окончания лечения по следующим показателям: размеры опухолей, пролиферативная активность, плотность сосудов, микроваскулярная пролиферация, степень некролиза, степень диффузного инфильтративного роста.

Результаты и выводы. Глиома крысы 101/8 по своим характеристикам (инвазия ткани мозга, высокая пролиферативная активность, выраженная васкуляризация и некролизация) близка к глиобластома человека и является адекватной моделью для экспериментальной химиотерапии. Как показано ранее, внутривенное введение доксорубина Докс-НЧ, приводит к значительному увеличению продолжительности жизни и выживаемости 20–30 % крыс с интракраниально имплантированной глиомой 101/8.

Результаты настоящего исследования показали, что Докс-НЧ проявляет выраженный противоопухолевый эффект, выражавшийся в уменьшении количества интракраниальных опухолей и их размеров, снижении клеточной пролиферации, микроваскуляризации и плотности сосудов. Действие Докс-НЧ значительно и достоверно превышало эффект свободного доксорубина. Показано, что противоопухолевое действие Докс-НЧ связано с антиангиогенным эффектом.

А.З. Хашукоева, О.Б. Отдельнова, Е.С. Купеева, С.Ю. Дзинь Ха.

ФДТ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ФОТОДИТАЗИН В ЛЕЧЕНИИ ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ МАТКИ

ГОУ ВПО Российский государственный медицинский университет, Москва

Гиперпластические процессы эндометрия (ГПЭ) относятся к одной из основных и наиболее распространенных форм пролиферативных заболеваний сли-

зистой тела матки, возможность злокачественной трансформации которых определяет повышенный интерес к этой нозологической группе. Фотодинамическая терапия (ФДТ) – это метод воздействия на пролиферативно измененные ткани путем активации введенного в организм раствора биохимически инертного в темноте фотосенсибилизатора светом заданной длины волны. Создание метода вторичной профилактики рака эндометрия на основе ФДТ и составили предмет нашего исследования.

Материалы и методы. В ходе работы проанализированы данные об обследовании и лечении методом ФДТ 60 женщин с ГПЭ, средний возраст – 52,8±0,4 года. УЗИ органов малого таза, гистероскопия с последующим выскабливанием цервикального канала и стенок полости матки, а на завершающем этапе – морфологическое исследование соскоба, были использованы как стандартные диагностические методики при данной патологии. В качестве фотосенсибилизатора (ФС) для фотодинамической абляции эндометрия использовался внутривенно вводимый препарат «Фотодитазин» (ООО «Вета-гранд») в дозе 1–1,5 мг/кг веса. Через 1,5–2 ч после введения ФС проводили облучение полости матки с использованием полупроводникового лазерного аппарата «Аткус-2» с применением внутриматочного баллонного силиконового световода (ООО «Полироник», Россия). Доза облучения при проведении сеанса ФДТ эндометрия составила 200–350 Дж/см². Лазерное воздействие проводили без использования анестезии.

Результаты. Эффективность ФДТ у больных с ГПЭ оценивалась на основании УЗИ срединного М-эхо и морфологического исследования материала из полости матки. Так, по результатам УЗИ-исследования, к 6 месяцу наблюдения средняя толщина М-эхо составила 3,1±1,4, а через 2 года наблюдения отмечено уменьшение его размеров средних значений до цифр 2,7±0,3 мм. Морфологический материал, полученный из полости матки у пациенток после ФДТ, был представлен фиброзной и гладкомышечной тканью.

Рецидив гиперпластического процесса эндометрия, возник в сроки от 6 до 14 месяцев у 7 (11,6 %) больных, причем, только у женщин с сопутствующей гинекологической патологией в виде аденомиоза и миомы матки. Повторный сеанс ФДТ эндометрия у 6 пациенток закончился полной клинической ремиссией.

Таким образом, общее число больных, излеченных с помощью ФДТ в течение 6–14 месяцев, достигло 59 человек (98,3 %).

Выводы. Полученные в ходе исследования данные дают основания рекомендовать метод фотодинамической абляции эндометрия для лечения ГПЭ у женщин пре- и постменопаузального периода.

Т.К. Холиков, М.А. Гафур-Ахунов, З.М. Еникеева, С.Н. Наврузов

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ДЭКОЦИНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА КОЖИ, А ТАКЖЕ УСИЛИВАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЕ ОБЛУЧЕНИЯ НА ОПУХОЛИ

Республиканский онкологический центр МЗ Республики Узбекистан, Ташкент

Цель исследования. Изучение применения нового противоопухолевого препарата Дэкоцин в виде 3 и 4% мази на больных раком кожи.

Материалы и методы. Под нашим наблюдением находилось 39 больных раком кожи I–II–III и IV стадии. Из 39 больных мужчин было 21 (54 %), женщин – 18 (46 %), возраст больных колебался от 40 до 84 лет, что в среднем составило – 66,4 лет.

Размеры опухолей колебались от 0,5 см до 7 см. В 19 случаях (48,37 %) опухоль была от 0,5 до 2 см, у 12 (30,8 %) – от 2 до 5 см, у 8 больных (20,5 %) опухоль была более 5 см. В большинстве случаев опухолевые узлы были солитарного (35 больных), реже множественного характера (у 4 больных). Из 39 больных у 48,7 % гистологически был плоскоклеточный рак различной дифференцировки (неороговевающий и ороговевающий), а у 51,3 % – базальноклеточный рак. Распространенность опухолевого процесса оценивалась по системе TNM (2002 г.). При этом у 14 больных (35,9 %) был выявлен $T_1N_0M_0$, у 17 (43,6 %) – $T_2N_0M_0$, у 7 больных (17,9 %) – $T_3N_{0-1}M_{0-1}$ и у 1 (2,6 %) – $T_4N_{0-1}M_{0-1}$.

Результаты. Через месяц применения Дэкцина полный эффект был у 29 (74,4 %), частичный (уменьшение опухоли до 75 %) у 8 (17,9 %) больных с T3 стадией, которых в дальнейшем пролечили дополнительным назначением Дэкцина. Это позволило из этих 8 больных с T3 стадией получить полный эффект у 6 больных (75 %). У 3 (7,7 %) больных ($T_{3-4}N_0M_0$) эффект был незначительный (до 40 %) из-за объемного изъязвления опухоли. Эти больные в дальнейшем были эффективно пролечены облучением. Все 35 больных, вылеченные Дэкцином, наблюдаются, проводится контрольный осмотр каждые 3 мес. Из 35 больных через 1 год у 1 больного (2,85 %) отмечен рецидив опухоли, также через 2 года у 1 больного (2,85 %) был отмечен рецидив опухоли. В течение наблюдения метастазов в лимфатических узлах не отмечено. 4 больных с $T_{3-4}N_0M_0$, а также 2 больных с рецидивами были пролечены химиотерапией (цисплатин + метотрексат).

Выводы. Полученные данные указывают на высокую чувствительность рака кожи в стадиях T_{1-3} к 3–4% мази Дэкцин; препарат высокоэффективен при раке кожи периорбитальной области без побочного воздействия на зрение и не вызывает лейкопении и депрессии иммунной системы. Также следует отметить чувствительность опухолей, на которых применялся Дэкцин, к облучению.

Е.В. Хорошева¹, Г.К. Герасимова¹, О.Л. Калия²

ВЛИЯНИЕ IN VITRO ИНГИБИТОРА КАТАЛАЗЫ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ КАТАЛИТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ТФ+АК

¹РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

²ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Москва

Цитотоксический эффект каталитической системы терафтал (ТФ) + аскорбиновая кислота (АК) связывают с образованием H_2O_2 , продукта катализируемой ТФ реакции окисления АК, с последующим образованием высокореактивных радикалов $OH^\bullet$ при взаимодействии H_2O_2 с ТФ. Антиоксидантная система клеток, одним из основных компонентов которой является фермент каталаза, быстро разрушает H_2O_2 и препятствует образованию свободного радикала $OH^\bullet$.

Задачи исследования. Проверить предположение, что снижение в клетках активности каталазы может привести к повышению цитотоксического действия каталитической системы ТФ+АК.

Материалы и методы. Клетки эритролейкоза человека K562 культивировали при стандартных условиях. В работе использовали: ингибитор каталазы 3-амино-1,2,4-триазол (3-АТ), H_2O_2 (Sigma), раствор АК 5% аптечный, терафтал лио (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК»). Молярное соотношение компонентов ТФ+АК [1:10]. Жизнеспособность опухо-

левых клеток оценивали МТТ тестом. EC_{50} определяли методом регрессионного анализа с использованием программы GraphPad PRIZM. Определение внутриклеточных свободных радикалов (СР) проводили с использованием дихлорофлуоресцеин диацетата - H_2DCFDA .

Результаты и выводы. Ингибитор 3-АТ в диапазоне концентраций от 0,5 до 2 мМ снижает жизнеспособность клеток на 10–20 %. Эффективная концентрация (EC_{50}) каталитической системы ТФ+АК 10 мкМ при использовании её в комбинации с 3-АТ снижается до 0,7 мкМ, т.е. чувствительность клеток к действию каталитической системы возрастает на порядок. При этом увеличение концентрации 3-АТ от 0,5 мМ до 2 мМ не приводит к повышению чувствительности клеток к ТФ+АК. Оценка уровня СР в клетках показала, что при действии одой каталитической системы [10 мкМ по ТФ] уровень СР повышается в 2 раза по сравнению с базовым. Инкубация клеток с 3-АТ (2 мМ) приводит к повышению уровня СР в 4,8 раза, а комбинация ТФ+АК с 3-АТ повышает уровень СР в 3,5 раза. Чувствительность клеток K562 к действию каталитической системы ТФ+АК возрастает на порядок при совместном применении с ингибитором каталазы 3-АТ, что коррелирует с повышением уровня внутриклеточных СР. Работа выполнена в рамках НТП «Разработка и практическое освоение в здравоохранении новых методов и средств профилактики, диагностики и лечения онкологических, инфекционных и других опасных заболеваний».

В.Т. Циклаури, Т.Н. Заботина, Л.П. Яковлева,

И.С. Романов, З.Г. Кадагидзе, Е.Г. Матякин

ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА ГАЛАВИТ У ПЕРВИЧНЫХ БОЛЬНЫХ РАКОМ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА И ПРОФИЛАКТИКА ОСЛОЖНЕНИЙ В ПЕРИОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Цель исследования. Оценить роль препарата Галавит у первичных больных раком слизистой оболочки полости рта в пред- и постоперационном периоде.

Материалы и методы. Нами было проведено исследование 35 пациентов с диагнозом рак слизистой оболочки полости рта в возрасте от 23 до 72 лет. В исследование вошли больные со II–IV стадией, гистологическая картина в 100 % случаев была представлена плоскоклеточным раком (высокой, умеренной и низкой степени дифференцировки) следующих локализаций: рак языка – 15 пациентов, слизистой оболочки щеки – 4 пациента, рак слизистой оболочки дна полости рта – 7 пациентов, рак слизистой оболочки альвеолярного отростка верхней и нижней челюсти – 6 пациентов, рак слизистой оболочки ретромолярной области – 3 пациента. Диагноз был подтвержден на основании клинико-морфологических данных. Двадцать пациентов получили комбинированное лечение (хирургическое и лучевое) в сочетании с иммунотерапевтическим, которое включало в себя инъекции препарата Галавит по 100 мг 1 раз в день 5 инъекций до операции, 5 инъекций по 100 мг через день после операции, курс составил 10 инъекций. Группу сравнения составили пятнадцать пациентов, получивших только комбинированное лечение, без препарата Галавит.

Результаты и выводы. В предоперационном периоде после введения Галавита у 15 пациентов наблюдалось уменьшение инфильтрации окружающих тканей в проекции новообразования.

Семнадцать пациентов отмечали субъективное уменьшение болевых ощущений связанных с опухолью, снижение дисфагии. Постоперационный период у шестнадцати больных протекал без осложнений, заживление раны происходило первичным натяжением на 7–10 сутки. У четырех пациентов, получивших Галавит, наблюдались осложнения в виде расхождения краев раны в полости рта (3 пациента), образования оростом, свищей (4 пациента), некроза тканей (2 пациента) и пневмонии (1 пациент). У 15 пациентов из группы сравнения, не получавших Галавит, в постоперационном периоде отмечались следующие осложнения: у 7 больных расхождение краев раны в полости рта и на шее, у 5 пациентов – образование оростомы, у 3 пациентов – пневмония.

Н.А. Цыганова¹, М.В. Рыжова¹, Г.С. Терентюк²,
Б.Н. Хлебцов³, Р.М. Хайруллин¹, Н.Г. Хлебцов^{2,3}

МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ ТКАНЕВОЙ ДИНАМИКИ НАНОЧАСТИЦ В ОПУХОЛЕВЫХ ТКАНЯХ ПРИ ЛАЗЕРНОЙ ГИПЕРТЕРМИИ

¹Ульяновский государственный университет, Ульяновск

²Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского

³Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

Целью исследования явилось сравнение эффективности морфологических и не морфологических методов контроля тканевой динамики накопления и кинетики золотых плазмонно-резонансных наночастиц при их системном введении в ткани и органах интактных экспериментальных животных и животных со спонтанными и перевитыми опухолями, подвергшихся локальной гипертермии.

Материалом исследования послужили гистологические препараты тканей и органов белых беспородных лабораторных крыс с перевитыми опухолями (рак почки), а также домашних собак с различными видами спонтанных новообразований.

Соответствующие контрольные группы составили интактные крысы и здоровые животные. Обеим группам животных внутривенно и интерстициально вводили золотые наночастицы с внешним диаметром 160 нм. Животных с опухолями подвергали лазерной гипертермии.

Использование золотых плазмонно-резонансных наночастиц для лазерной гипертермии неизменных и опухолевых тканей существенно повышает скорость их нагрева, а также стимулирует процессы апоптоза клеток, оказывает системные иммуномодулирующие эффекты.

Установлено, что пространственное распределение температуры биологических тканей при лазерной гипертермии с наночастицами коррелирует с возникающими в них морфологическими изменениями.

Количественная динамика пассивного накопления золотых наночастиц в перевитых опухолях имеет два временных интервала максимального повышения концентрации золота в опухоли.

Первый максимум, обусловленный васкуляризацией опухоли, соответствует максимальной концентрации наночастиц в циркулирующей крови, второй максимум обусловлен фенестрацией эндотелия сосудов опухоли и наблюдается спустя сутки после системного введения золотых плазмонно-резонансных наночастиц.

Как показали результаты сравнительного исследования, гистологические методы детекции золотых наночастиц в тканях интактных и опытных животных с применением хлорида олова и нитрата серебра по сравнению с другими (атомно-абсорбционная спектрофотометрия, темнопольная микроскопия) позволяют продемонстри-

ровать как их селективную внутриклеточную локализацию, так и распределение в тканевых и сосудистых структурах.

А.А. Черепанов¹, А.А. Липенгольц¹, Т.П. Климова²,
Т.А. Бабушкина², Н.В. Смолина³, В.Н. Кулаков¹
**О ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ФОТОН-ЗАХВАТНЫХ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

С АЛЬБУМИНОМ СЫВОРОТКИ КРОВИ

¹Федеральный медицинский биофизический центр им.

А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва

²Институт элементоорганических соединений им.

А.Н. Несмеянова РАН, Москва

³НИИ физико-химической медицины Минздрава России, Москва

Разработка новых эффективных лучевых технологий терапии злокачественных новообразований является актуальной задачей здравоохранения. Наибольший интерес представляют методы дозсаплиментарной (дозодополнительной) лучевой терапии, основным преимуществом которых является возможность поражения опухолевой ткани при минимальной лучевой нагрузке на нормальные ткани организма.

Таким видом лучевой терапии является фотон-захватная терапия (ФЗТ). ФЗТ является бинарной технологией. Для ее реализации необходимо обязательное наличие двух компонентов: специального фотонного излучателя и препаратов, в состав которых входят элементы, взаимодействию которых с фотонным излучением обеспечивает образование непосредственно в опухоли вторичного излучения в дозах, обеспечивающих полное поражение опухоли.

В настоящее время НИИ ФЛТ разработан опытный образец универсального фотонного излучателя, предназначенного как для короткофокусной рентгенотерапии, так и для ФЗТ. Для ФЗТ в качестве специальных лекарственных средств исследуются два, Дипентаст (Д) и Висиптаст (В), основные субстанции которых представляют собой комплексные соединения диэтилентриаминопентауксусной кислоты с Gd^{3+} и Bi^{3+} . Такие лекарственные средства позволяют увеличить локальную дозу в опухоли в 2,5–3,5 раза. Для изучения механизма выведения субстанций Дипентаста и Висиптаста из организма необходимо количественно оценить процесс их взаимодействия с альбумином крови – основным переносчиком низкомолекулярных соединений, в том числе и ксенобиотиков.

Нами была сконструирована и изготовлена установка, позволяющая следить за процессом взаимодействия лекарственных средств с альбумином, непрерывно регистрирующая величину оптической плотности раствора низкомолекулярной субстанции, которая связывается с альбумином, проходя через проницаемую для нее мембрану в сосуд с альбумином. Субстанция Д имеет максимумы поглощения в ультрафиолетовой области при $\lambda = 273,7, 274,7$ и $276,4$ нм, а В и $\lambda = 277,7$ нм. Размер молекул субстанций Д и В около 0,5 нм. С 1 молекулой альбумина прочно связывается 1 молекула субстанции. Для оценки степени конформационных изменений молекулы альбумина, вызванных присоединением субстанций Д и В к кислотным центрам связывания альбумина, был использован флуоресцентный зонд (ФЗ). ФЗ связывается с гидрофобными зонами молекулы альбумина и позволяет констатировать наличие кооперативных структурных переходов, вызванных изменением первичной конформации белковой молекулы. Полученные результаты позволяют рассмотреть процесс элиминации субстанций из организма с момента попадания Д и В в кровоток до выведения из организма по механизму клубочковой фильтрации.

И.О. Чикилева

**ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-КЛЕТОК
НА ПРОГРЕССИРОВАНИЕ ЗНО
И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИММУНОТЕРАПИИ РАКА
РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва**

Введение. С регуляторными Т-клетками (Трег) принято связывать низкую эффективность противоопухолевой иммунотерапии и отсутствие противоопухолевого иммунного надзора у пациентов со злокачественными новообразованиями, так как они способны подавлять активность цитотоксических лимфоцитов (ЦТЛ) и натуральных киллеров (НК).

Задачи исследования. Во-первых, оценить содержание Трег в крови пациентов с неоплазиями, опухолях и злокачественном выпоте. Во-вторых, установить каким образом Трег влияют на препараты НК, активированных ИЛ-2.

Материалы и методы. Содержание Трег определяли путем окрашивания препаратов МНК флуоресцентно мечеными антителами к поверхностным маркерам CD4, CD25 (Beckman Coulter, США) и внутриклеточному маркеру Трег FoxP3 (Myltenyi Biotec, Германия) с последующей визуализацией клеткок при помощи флуоресцентной микроскопии (AxioPlan 2 Imaging, Zeiss, Германия) или при помощи проточной цитометрии FACSCalibur (BD Biosciences, США). Трег выделяли методом магнитной сепарации, используя наборы: «Dynabeads® для выделения CD4⁺CD25⁺ Трег» (Dyna, США) и «Набор для выделения CD4⁺CD25⁺CD127^{dim/-} Трег из мононуклеарных клеток периферической крови (МНК) человека» (Myltenyi Biotec, Германия). НК-активность определяли стандартным МТТ-методом в отношении линии К-562.

Результаты и выводы. Накопление Трег отмечалось часто в опухолях, а также в злокачественном выпоте по мере прогрессирования онкологического заболевания. Системное увеличение Трег в крови пациентов со злокачественными опухолями наблюдалось сравнительно реже. Было показано, что среди МНК доноров до и после активации ИЛ-2 содержится невысокая доля Трег. Основная часть CD4⁺CD25⁺ лимфоцитов, полученных из популяций активированных МНК, была представлена активированными Т хэлперами (Тх) так же, как и Трег, несущими на поверхности маркер активации CD25. Они не/или слабо экспрессировали маркер Трег FoxP3 и не ингибировали цитотоксическую активность аутологичных активированных НК. Магнитная сепарация Трег или их системное удаление из крови до сих пор главным образом обоснованы на маркере CD25. Таким образом, удаление CD4⁺CD25⁺ клеток из популяций активированных ИЛ-2 лимфоцитов не целесообразно, так как они не препятствуют противоопухолевой активности аутологичных НК. Данные других исследователей показали неэффективность системного удаления Трег даже в комбинации с противоопухолевыми вакцинами для лечения злокачественных новообразований.

А.Р. Чочиева, Л.З. Болиева, Ф.К. Джисоев
**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ МЕЛОКСИКАМА
НА ВОЗНИКНОВЕНИЕ РМЖ,
ИНДУЦИРОВАННЫХ
N-МЕТИЛ-N-НИТРОЗОМОЧЕВИНОЙ
(МНМ) У КРЫС**

ГОУ ВПО СОГМА Росздрава, Владикавказ

Цель исследования. Изучение химиопрофилактической активности селективного ингибитора ЦОГ-

2 мелоксикама и изучение его влияния на показатели клеточного иммунитета в динамике канцерогенеза молочной железы.

Материалы и методы. Исследования проведены на 50 крысах-самках линии Вистар. Опухоли молочной железы индуцировали путем пятикратного интрамаммарного введения МНМ в дозе 2,5 мг на крысу в 0,2 мл воды для инъекций. Животные контрольной группы получали только канцероген, животные опытной группы получали наряду с канцерогеном мелоксикам 1,8 мг/кг массы тела 2 раза в неделю. Эффективность модифицирующего воздействия оценивали путем сравнения частоты, латентного периода возникновения опухолей в контрольной и опытной группах.

Для изучения состояния клеточного иммунитета исследовали функциональную активность Т- и В-лимфоцитов в реакции бласттрансформации (РБТЛ) с митогенами ФГА, КонА и ЛПС.

Результаты. Частота возникновения опухолей в группе животных, получавших мелоксикам, была достоверно ниже контрольного показателя и составила 47,8 % против 90,9 % ($p < 0,001$), латентный период развития опухолей был равен $201,7 \pm 11,6$ суток против $154,0 \pm 9,0$ суток в контроле ($p < 0,01$).

Снижение показателей спонтанной и индуцированной ФГА или КонА бласттрансформации отмечалось значительно в более поздние сроки, при отчетливой опухолевой прогрессии. Спонтанная трансформация лимфоцитов к концу эксперимента была в 1,3 раза ниже, чем у интактных животных, но в 1,7 раза выше, чем у животных контрольной группы. При действии ФГА данный показатель составил $8,3 \pm 1,1$ %, против $12,6 \pm 0,72$ % в группе интактных животных ($p < 0,05$), при действии КонА – $6,4 \pm 0,50$ % ($p > 0,05$) против $7,98 \pm 0,68$ %. Бласттрансформация В-лимфоцитов, стимулированная ЛПС, составила к концу исследования $8,4 \pm 1,1$ %, против $7,6 \pm 1,2$ % в контрольной группе ($p > 0,05$).

Выводы. Мелоксикам обладает химиопротективной активностью в отношении опухолей молочной железы, индуцированных у крыс МНМ. Иммуномодулирующей активностью, прежде всего, в отношении клеточного иммунитета, что может играть определенную роль в реализации его химиопротективного действия.

*О.Л. Шатова, Е.В. Хомутов, М.А. Матвиенко,
И.И. Зинкович*

**ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ
5-ФТОРУРАЦИЛА В ПЛАЗМЕ
И В ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ
ПРИ ЭНДОЛИМФАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ**

Донецкий государственный медицинский университет им. М. Горького, Донецк

Одним из перспективных направлений в химиотерапии рака является эндолимфальная химиотерапия, то есть введение химиопрепаратов, в том числе и 5-фторурацила (5-ФУ) в крупный лимфатический проток пациента.

С помощью этого нового метода введения удалось повысить эффективность лечения и снизить токсичность химиотерапии.

Так, например, полный и частичный объективный ответ на эндолимфальную химиотерапию составляет 93 %, тогда как при внутривенном введении всего 58 % случаев. Однако механизм выраженного положительного эффекта при указанном способе введения препарата на данный момент остается до конца невыясненным.

Цель исследования. Изучение роли лимфоцитов в транспорте 5-фторурацила из лимфатической системы к месту локализации опухоли.

Материалы и методы. Нами изучалась цельная кровь онкологических больных (n=12) взятая до и после проведения эндолимфальной химиотерапии. Концентрация 5-ФУ в плазме крови определялась методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Параллельно нами была измерена концентрация 5-ФУ в цитозоле лимфоцитов.

Результаты и выводы. В плазме больных распространенным раком желудка 5-ФУ не обнаруживается в пределах чувствительности нашего метода, которую можно оценить в 1 мкмоль/л. Полученный результат не является неожиданным, так как по литературным данным для внутривенного введения концентрация 5-ФУ составляет величину порядка 20–50 нмоль/л. В экстракте лимфоцитов онкологических больных обнаруживается значительное количество исследуемого цитостатика. Причем концентрация 5-ФУ внутри лимфоцитов существенно возрастает в первый час после введения препарата в лимфатический проток и поддерживается на относительно постоянном уровне в течение суток (исследуемого промежутка времени). Содержание 5-ФУ в экстракте лимфоцитов через сутки после введения составляло 400 ± 250 мкмоль/л. Крайне интересным, на наш взгляд, является тот факт, что концентрация 5-ФУ в лимфоцитах превышает концентрацию этого вещества в плазме. Это противоречит общепринятой гипотезе о механизме проникновения пиримидиновых нуклеотидов через клеточную мембрану путем облегченной диффузии. Таким образом, лимфоциты опухоленосителя, по-видимому, обладают способностью усваивать 5-ФУ и, возможно, принимают участие в процессе транспорта 5-ФУ в опухолевую ткань.

*А.С. Шатурова, Е.А. Дудко, Т.А. Богущ,
Э.Э. Джураев, К.К. Лактионов, Б.Е. Полоцкий*

РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА КОЛИЧЕСТВЕННОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ ЭСТРОГЕНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ β

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Цель исследования. Разработка методики количественного определения статуса эстрогеновых рецепторов (ЭР) признана одним из наиболее актуальных направлений диагностики рака молочной железы (Международная согласительная конференция в Сан Галене, 2009). В настоящее время в большинстве случаев для этой цели используют иммуногистохимический анализ и рутинно исследуют лишь ЭРа. Учитывая прогностическую значимость в оценке агрессивности течения различных злокачественных новообразований другого типа эстрогеновых рецепторов – ЭР β , настоящая работа посвящена разработке алгоритма количественного определения в солидных опухолях человека ЭР β .

Материалы и методы. Работа проведена на культуре клеток рака молочной железы MCF-7 и на клетках, полученных из хирургических образцов немелкоклеточного рака лёгкого человека с использованием иммунофлуоресцентного анализа и проточной цитофлуориметрии. Использованы антитела: первичные моноклональные к ЭР β (ab288/14C8, Abcam), вторичные поликлональные (IgG, конъюгированный с FITC, Sigma), изотип – мышинный IgG2a (ab18414, Abcam). Флуоресценцию клеток анализировали на проточном цитофлуориметре FACSCantoII (Becton Dickinson). Интенсивность специфически флуоресцирующих клеток оценивали с помощью программы WinMDI, количество специфически окрашенных клеток – методом Колмогорова-Смирнова (программа FlowJo 7.6).

Результаты. 1. В культуре клеток MCF-7 определен диапазон концентраций антител, в котором наблюдается линейное увеличение числа специфически окрашенных клеток и выход показателя на плато, т.е. окрашивание всех клеток, экспрессирующих ЭР β . 2. Определены оптимальные временные условия, позволяющие выявление всех клеток с экспрессией ЭР β при минимальном расходе антител и максимальном удобстве проведения анализа. 3. В многократно повторенных экспериментах продемонстрирована стабильность экспрессии ЭР β в клетках линии MCF-7. 4. На клетках немелкоклеточного рака легкого, полученных из хирургических образцов опухолей человека, продемонстрирована значительная индивидуальная вариабельность областей линейной зависимости и достижения плато специфической флуоресценции клеток от концентрации антител.

Выводы. 1. Продолжительность инкубации с первичными антителами, специфическими к ЭР β (ab288/14C8, Abcam), в течение 15–20 ч и с вторичными – 1,5 ч, является оптимальной с точки зрения чувствительности метода, сокращения расхода антител, выявления всех клеток, экспрессирующих ЭР β , а также удобства проведения анализа в клинической лаборатории. 2. Культура клеток рака молочной железы человека линии MCF-7 удовлетворяет требованиям референсной культуры и может быть использована для контроля активности антител при клиническом анализе ЭР β в опухолях человека. При этом необходимо использовать диапазон концентраций специфических к ЭР β антител, в который включены как область линейной зависимости специфического окрашивания клеток от концентрации антител (0,6 и 1,2 мкг/мл), так и область плато (2,5 мкг/мл). 3. При исследовании экспрессии ЭР β в солидных опухолях человека рекомендуется использовать концентрации антител 1,2; 2,5 и 5 мкг/мл, так как при этом увеличивается вероятность получения «дублирующих» данных (повторов) в области плато, то есть в области выявления всех клеток, экспрессирующих ЭР β , что значительно повышает точность анализа.

*Исследование поддержано Грантами РФФИ
№ 10-04-00551-а и 11-04-00542-а.*

М.Я. Шашкина, Г.Н. Апрышко, А.В. Сергеев **РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА И СТАНДАРТИЗАЦИИ ПРЕПАРАТА РОЗОЛАКРИТ** *РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва*

Введение. Розолакрит (РЗЛ) – новый отечественный препарат в капсулах лечебно-профилактического назначения. Обладает антимуtagenными и антиканцерогенными свойствами, проявляет иммуномодулирующее и антиоксидантное действие. Содержит экстракты солодки и тысячелистника, плоды шиповника, витамины С и группы В. Разработан в РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН совместно с ОАО «Холдинг-ЭДАС».

Цель. Разработка методов химико-фармацевтической стандартизации, контроля качества при производстве и безопасности при применении препарата.

Материалы и методы. Образцы РЗЛ, витаминов, фитосубстанций, спектрофотометрия, ВЭЖХ, титриметрия.

Результаты. Разработаны методики определения подлинности РЗЛ по биологически- активным веществам (ахиллеин, глицирризиновая кислота, флавоноиды). Количественное содержание глицирризиновой кислоты и флавоноидов (продуктов их взаимодействия с хлористым алюминием) в пересчете на рутин определяли методом спектрофотометрии при длинах волн 258 нм и 415 нм соответственно.

Количество аскорбиновой кислоты в капсуле анализировали модифицированным титриметрическим методом йодатного окисления. При анализе витаминов группы В использовали метод ВЭЖХ. Относительная ошибка разработанных методик количественного анализа не превышала 2,0%. Эти же методики использовали при определении сроков хранения РЗЛ в условиях искусственного и естественного старения. По данным исследований подготовлена нормативно-техническая документация на капсулы РЗЛ по 0,2 г и образцы для экспертизы во флаконах и блистерных упаковках. Определены показатели и критерии контроля качества, стандартизации РЗЛ и безопасности его (содержание токсичных элементов, пестицидов, радионуклидов, микробиологическая характеристика), регламентируемых требованиями САН ПИН.

Заключение. В настоящее время Розолакрит в капсулах по 0,2 г прошел экспертизу и Государственную регистрацию. Разрешен для производства и применения. Организован промышленный выпуск препарата. Области применения: химиопрофилактика рака, бронхо-легочных заболеваний в группах риска. Препарат включен в схемы комплексного лечения онкологических больных с целью снижения токсичности и иммунодефицита, индуцированных противоопухолевой терапией.

М.Я. Шашкина, Г.Н. Апрышко, А.В. Сергеев
ПЕРСПЕКТИВЫ ВКЛЮЧЕНИЯ
ОМЕГА-3 ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ
ЖИРНЫХ КИСЛОТ В СОСТАВ НОВЫХ
ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ
СРЕДСТВ В ОНКОЛОГИИ
РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Ненасыщенные жирные кислоты (ЖК) с 18 атомами углерода (C_{18}) омега-3 класса – α -линоленовая кислота (ЛНК) и омега-6 класса – линолевая кислота (ЛК) синтезируются только растениями и содержатся в маслах из семян льна, сои и др. В организме млекопитающих (в том числе человека) они превращаются в ЖК C_{20-22} с 4–6 двойными связями. Из ЛНК образуется эйкозапентаеновая кислота (ЭПК), а затем докозагексаеновая кислота (ДГК). Из ЛК – арахидоновая кислота (АК), которая превращается в докозапентаеновую кислоту (ДПК). Эти кислоты при метаболизме образуют высокоактивные полиеновые соединения – эйкозаноиды (ЭЗ): простагландины, тромбоксаны, лейкотриены. ЭЗ в низких дозах выполняют важную роль регуляторов действия гормонов, ферментов, процессов воспаления, хемотаксиса лейкоцитов, агрегации тромбоцитов, сужения сосудов. Регулирующая роль их реализуется за счет противоположного физиологического действия ЭЗ, производных омега-3 и омега-6 ЖК. Если ЭЗ омега-6 класса являются мощными индукторами воспалительных процессов, агрегации тромбоцитов, сужения сосудов, то ЭЗ омега-3 класса – слабые индукторы или ингибиторы этих процессов. За счет сбалансированности их содержания в организме поддерживается гомеостаз, при нарушении баланса возникают патологические отклонения. Омега-3 и омега-6 ЖК входят в состав фосфатидов всех клеточных биомембран. Эволюционно сформировался и поддерживается баланс соотношения омега-3: омега-6 = 1 : 1. Но в последние 100 лет, вследствие индустриальной революции в сфере производства и переработки растительных масел (рафинирование, дезодорирование, гидрогенизация) и увеличения потребления животных жиров, произошло серьезное изменение их баланса до соотношения 1 :

10–20 (25). На фоне значительного увеличения потребления общих жиров в десятки раз сократилось потребление наиболее лабильных омега-3 ЖК. Пища, обогащенная омега-6 ЖК, сдвигает физиологическое состояние в патологическую сторону с повышением вязкости крови, возникновением сосудистых спазмов. ЭЗ, образованные из АК, при их высоком содержании в организме усиливают тромбоз, атеросклеротические, аллергические, воспалительные процессы, пролиферацию клеток. Между ЛНК и АК наблюдается конкуренция за ферменты десатурации при образовании пента- и гексаеновых производных, а между ЭПК и АК – конкуренция за образование ЭЗ на цикло- и липооксигеназном уровне. Показано, что активность десатураз снижается с возрастом, а также у больных диабетом, гипертензией, недоношенных детей.

Основным источником омега-3 ЖК является рыба и продукты на ее основе (масло из тканей морских рыб). В настоящее время выпускается целый ряд препаратов зарубежных и отечественных фирм, содержащих рыбный жир для лечения сердечно-сосудистых заболеваний. Они обладают антисклеротическими, гиполипидемическими свойствами. ЭПК и ДГК, содержащиеся в рыбе, замещают омега-6 ЖК (особенно АК) в фосфолипидах мембран тромбоцитов, эритроцитов, нейтрофилов, моноцитов, что приводит к снижению продукции ЭЗ омега-6 класса. ДГК находится, главным образом, в фосфолипидах головного мозга, сетчатки глаза, яичек, спермы. Она необходима для функционального развития недоношенных детей (содержится в женском молоке). По данным эпидемиологических исследований, в группах населения, потребляющих продукты с более высоким уровнем соотношения омега-3 : омега-6, на 42 % снижается смертность от сердечно-сосудистых и на 33 % от онкологических заболеваний, чем в группах, потребляющих продукты с более низким уровнем этого соотношения.

Экспериментальные исследования за рубежом и в РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН показали, что омега-3 ЖК обладают антиканцерогенным действием (увеличивают инкубационный период появления индуцированных опухолей, уменьшают их размеры и количество), а омега-6 ЖК, наоборот, усиливают канцерогенез. В клинических наблюдениях выявлено, что омега-3 ЖК обладают также антиаггеггационными свойствами, снижают токсическое действие химио- и радиотерапии, проявляют умеренную противоопухолевую активность. Показана возможность использования омега-3 ЖК в качестве вспомогательного средства комплексного лечения онкологических больных, больных с сердечно-сосудистой патологией.

Таким образом, в настоящее время актуальна и перспективна разработка новых лекарственных средств на основе омега-3 ЖК для включения их в комплексные схемы лечения онкологических больных и химиопрофилактики рака в группах риска.

И.Ж. Шубина, В.В. Решетникова, Ю.Н. Соколов
МЕХАНИЗМЫ
ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ИММУНИТЕТА
КАК ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ
ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ
ПРЕПАРАТОВ В ОНКОЛОГИИ
РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Несмотря на огромные достижения в области иммунологии, роль иммунной системы в защите организма человека от злокачественных новообразований раскрыта далеко не полностью.

Проблема взаимоотношений между неопластическими клетками и системами врожденного и приобретенного иммунитета находит отражение в основных принципах противоопухолевого иммунитета. Главное положение теории противоопухолевого иммунитета – это существование системы иммунологического надзора.

Еще в начале XX века Пауль Эрлих (1909) предположил, что у человека с высокой частотой возникают «аномальные образования» – опухоли, которые неизбежно разовьются в смертельные, если их не будет устранять иммунная система. Согласно теории иммунологического надзора иммунная система распознает аномальные трансформированные клетки и разрушает их. Если неопластическая клетка сможет избежать уничтожения факторами иммунитета, она даст начало клону клеток, приводящих к ЗНО.

В пользу этой теории приводят результаты различных исследований: в экспериментах на иммунодефицитных мышах показано увеличение спонтанно возникающих опухолей. Клинические и экспериментальные наблюдения указывали на повышенную частоту возникновения многих типов опухолей для больных с иммуносупрессией и у реципиентов трансплантатов органов; наличие опухолеассоциированных антигенов, которые распознаются CD8+ или CD4+ Т-лимфоцитами.

Однако ряд авторов приводят факты, которые не укладываются полностью в теорию иммунологического надзора. Например, при иммуносупрессии отсутствует увеличение частоты развития опухолей в иммунопривилегированных зонах (головной и спинной мозг); отсутствует увеличение онкологической заболеваемости при иммунодефицитах у человека (исключение, саркома Капоши и лимфомы при СПИДе) (И. Пенн, 2002 г.). При этом большая часть опухолей, возникающих при иммуно-некомпетентных состояниях, имеет вирусную природу.

По нашим данным и исследованиям других авторов наблюдается отсутствие иммуносупрессии на I и II стадиях онкологических заболеваний (показатели по иммунному статусу, цитокиновому профилю, функциональной активности эффекторов иммунитета не отличаются от этих параметров у здоровых доноров).

Современные представления о противоопухолевом иммунитете привели к формулировке теории иммунного редактирования (Schreiber, 2002). В процессе постоянного возникновения трансформированных клеток иммунная система распознает аномальные клетки, которые несут отличные от нормальных клеток антигены и уничтожает их (иммунноонкологический надзор), при этом происходит отбор клеток, устойчивых к действию иммунной системы, которые затем дают клоны низкоиммуногенных опухолей. Этот процесс назван иммунологическим редактированием, который, с одной стороны, отсекает трансформированные высокоиммуногенные клетки, а, с другой, – позволяет развиваться селективным клоном неиммуногенных опухолевых клеток, часто с низкой экспрессией МНС II, в результате чего цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ) не могут выполнять свою функцию.

Эта теория частично объясняет недостаточную эффективность иммунотерапии, т.к. в результате селективного отбора иммунологического редактирования развиваются резистентные к действию иммунной системы опухоли.

Иммунный баланс поддерживается балансом цитокинов, продуцируемых эффекторами врожденного и приобретенного иммунитета. Иммунорегуляция 1 типа (клеточный иммунитет) осуществляется при участии стимулирующих цитокинов ИЛ-12 и ИФН-гамма, а гуморальный ответ (иммунорегуляция 2 типа) – при участии ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10 и/или ТРФβ.

Противоопухолевый иммунитет может осуществляться за счет функционирования ЦТЛ, которые способны напрямую оказывать цитотоксическое действие в отношении клеток-мишеней, в то время как при гуморальном иммунитете ввиду неиммуногенности (или низкой иммуногенности) опухолей специфические антитела не вырабатываются или же действие их неэффективно.

Дендритные клетки (ДК) играют важнейшую роль в осуществлении связи врожденного и приобретенного иммунитета. ИЛ-12, вырабатываемый ДК в ответ на их активацию, стимулирует эффекторы врожденного иммунитета γδТ-лимфоциты, натуральные киллеры (НК), натуральные киллеры Т-клетки (НКТ), которые начинают активно продуцировать ИФН-гамма, играющий основную роль в стимуляции ЦТЛ, а в последующем в угнетении ангиогенеза. Являясь эффективными антиген-презентирующими клетками (АПК), с повышенной экспрессией МНС I и II класса, ДК стимулируют развитие специфического (приобретенного) иммунитета, активируя функции лимфоцитов Т-хелперов и Т-цитотоксических 1 типа (Тх1 и Тц1). Тх1, выделяя ИФН-гамма и ИЛ-2 стимулируют цитотоксическую активность Тц1, взаимодействующих с опухолевой клеткой. Т-клетки памяти CD8+ (CD8m) и CD4+ (CD4m) также продуцируют ИФН-гамма, стимулируя ранний ответ по типу 1.

Напротив, эффекторные клетки, продуцирующие ИЛ-4, ИЛ-10 и/или ТРФ-β, а также регуляторные Т-клетки (Трег CD4+/CD25+, оказывают супрессорное действие на функцию ЦТЛ и НК), подавляют иммунорегуляцию 1 типа и стимулируют иммунный ответ 2 типа.

Кроме того, реализация противоопухолевого потенциала иммунорегуляторного звена 1 типа осложнена тем, что вследствие иммунологического редактирования наблюдается низкая иммуногенность опухолей, низкая экспрессия МНС I и II и/или костимулирующих молекул, отсутствие или низкая экспрессия опухолевых антигенов, а также гетерогенность опухолей.

Таким образом, иммунная система может либо предотвращать развитие злокачественного новообразования и разрушать уже сформировавшуюся опухоль, либо стимулировать карциногенез, прогрессию злокачественного заболевания или метастазирование. Какой из этих процессов будет преобладать – зависит от равновесия между медиаторами, стимулирующими или ингибирующими опухолевый рост, которые участвуют в реализации как врожденного, так и приобретенного иммунитета.

А.Е. Щекотихин¹, М.И. Трещалин¹, Н.А. Лесная²,
В.И. Романенко², Е.М. Трещалина²

М.Н. Преображенская¹

НОВОЕ ПРОИЗВОДНОЕ ФУРАНОХИНИЗАРИНА С ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТЬЮ

¹НИИНА им Г.Ф. Гаузе РАМН, Москва

²РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Введение. Для скрининга *in vivo* по результатам прескрининга *in vitro* (МТТ-тест) на культуре клеток L1210 было отобрано производное фуранохинизарина ЛХТА-1382, проявившее значимую антипролиферативную активность (IC₅₀=0,044 мкг/мл).

Цель исследования. Скрининг ЛХТА-1382 на мышах с лимфолейкозом P388.

Материалы и методы. Использованы мыши BDF₁ с внутривенно (в/в) перевитым лимфолейкозом P388. Лечение начинали на 2 сутки после трансплантации. Препарат вводили в/в в дозах 40–80 мг/кг однократно или в разовых дозах 10, 15, 20 мг/кг (суммарно 50, 75, 100 мг/кг) ежедневно 5 дней. Противоопухолевый эффект оценен по стандартному критерию Т/С≥125 %, достоверными считали различия при p≤0,05 (n=3–4).

О переносимости лечения судили по гибели от токсичности и наличию каких-либо визуальных патологических изменений или при аутопсии павших мышей.

Результаты. Показано, что при однократном внутрибрюшинном введении ЛХТА-1382 проявляет дозозависимое противоопухолевое действие в диапазоне переносимых доз от 40 до 70 мг/кг на уровне Т/С=131–157 %, лучший результат дала доза 70 мг/кг ($p<0,05$). При дозе 80 мг/кг отмечена гибель мышей от токсичности без выраженных визуальных патологических изменений или при аутопсии.

При 5-кратном курсе лечения ЛХТА-1382 в прямой зависимости от величины суммарной дозы в диапазоне разовых доз 10–20 мг/кг показал Т/С=130–165 %.

Лучшие результаты получены при разовой дозе 15 мг/кг (суммарно 75 мг/кг), Т/С=153 % ($p<0,05$). При многократном введении диапазон терапевтических доз ЛХТА-1382 не определен, т.к. токсическая доза не достигнута.

У павших от лейкоза мышей каких-либо выраженных визуальных патологических изменений или при аутопсии не выявлено.

Анализ результатов однократного и многократного курсов лечения свидетельствует об идентичной эффективности и переносимости ЛХТА-1382 в суммарной дозе 70–75 мг/кг, Т/С=157–153 %.

Заключение. Таким образом, ЛХТА-1382 в широком диапазоне доз при однократном или 5-кратном ежедневном внутрибрюшинном введении проявил значимую противоопухолевую активность на мышцах с внутрибрюшинно перевитым лимфолейкозом Р388.

Анализ эффективности и переносимости агента при однократном и 5-кратном курсе свидетельствует об отсутствии кумуляции противоопухолевого и, возможно, низкой кумуляции токсического действия агента. Для продолжения изучения рекомендовано повысить солюбилизацию субстанции для увеличения биодоступности.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов Президента РФ МД-242.2010.4, НШ-5290.2010.4.

А.Е. Щекотихин¹, В.А. Глазунова²,

Л.Г. Деженкова¹, А.А. Штиль²,

М.Н. Преображенская¹

НОВЫЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ АНТРАТИОФЕНДИОНЫ: ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ БОКОВЫХ ЦЕПЕЙ НА ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ И АКТИВНОСТЬ ТОПОИЗОМЕРАЗЫ I

¹НИИИНА им Г.Ф. Гаузе РАМН, Москва

²РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Введение. Ранее нами были получены перспективные кандидаты в противоопухолевые препараты на основе гетероаренантрацендионов, показана их способность ингибировать активность ДНК-зависимого фермента топоизомеразы I (топо I) и высокая цитотоксичность для опухолевых клеток, включая ряд резистентных линий.

Цель исследования. Выявление связей структура – активность и оптимизация структуры боковых цепей в ряду производных антрациофендионов.

Материалы и методы. Серия 4,11-диаминоантра[2,3-*b*]тиофен-5,10-дионов, различающихся длиной спейсерных групп боковых цепей (от этилена до 1,4-бутилена), была получена по ранее разработанной методологии (А.Е.

Shchekotikhin et. al., 2009). Цитотоксичность соединений определяли на линиях клеток лейкоза человека (K562) и рака толстой кишки (HCT116).

Активность топо I (Promega, USA) определяли в реакции релаксации суперскрученной ДНК (плазмиды pBR₃₂₂, Fermentas, Литва).

Результаты. Антрациофендионы в концентрациях 0,1–5 мкМ ингибировали пролиферацию изученных линий клеток и снижали активность топо I в реакции релаксации суперскрученной ДНК.

Для изученной серии антрациофендионов обнаружена зависимость антипролиферативной активности производных от длины боковых аминоалкильных заместителей.

Цитотоксические свойства антрациофендионов коррелируют с их способностью ингибировать топо I. Таким образом, найдено, что наибольшей активностью обладает антрациофендион с пропиленовым и этиленовым спейсерами в положениях 4 и 11 соответственно.

Выводы. Получен ряд новых цитотоксичных производных антрациофендионов с различной длиной боковых аминоалкильных цепей в положениях 4,11 хромофора. Проведена оптимизация структуры спейсерных групп боковых цепей антрациофендионов и выявлено соединение-лидер, перспективное для дальнейшего углубленного изучения.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов Президента РФ МД-242.2010.4 и НШ-5290.2010.4.

Т.Г. Щербатюк, В.А. Лазарева,
Д.В. Давыденко, А.В. Масленникова

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ОЗОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В КОМБИНИРОВАННОМ ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ

Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород

В период с 1994 по 2007 гг. были выполнены эксперименты на 1200 белых нелинейных крысах-самцах. Формирование моделей опухолей проводилось путем подкожной трансплантации клеток саркомы-45, Лимфосаркомы Плисса, гепатомы-27 и гепатомы Зайделя, приобретенных в РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН (г. Москва).

Озонотерапию подопытных животных осуществляли путем интра- и паратуморального, а также парентерального введения озона в виде озонированного физиологического раствора (ОФР) в течение 5 сеансов.

Озонокислородную смесь получали из медицинского сверхчистого кислорода на озонаторе (РФЯЦ-ВНИИЭФ, г. Саров).

Воздействия ОФР осуществлялись сразу после барботирования. Воздействие ионизирующим излучением (ИИ): животные подвергались гамма-облучению на установке радиологического отделения городского онкологического диспансера.

Доза и способ введения 5-фторурацила и доксорубина были установлены согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (2000). После декапитации под эфирным наркозом проводили оценку свободнорадикального баланса, активности углеводного обмена, анализ морфологических изменений в гистологических препаратах опухоли. Установлен терапевтический интервал концентраций озона для парентерального введения.

Доказано, что ОФР в плане предлучевой подготовки животным с экспериментальными опухолями повышает уровень свободнорадикальных реакций в опухолевой ткани, что приводит к усилению повреждающего действия ИИ за счет повышения радиочувствительности опухоли; комбинированное использование парентерального введения ОФР и ИИ с меньшей дозой облучения является эффективным подходом, направленным как на дестабилизацию свободнорадикального уровня бластотрансформированных клеток, так и на коррекцию свободнорадикального баланса организма-опухоленосителя; комбинированное действие озона- и ХТ (5-фторурацил, доксорубин) тормозит рост экспериментальных опухолей и увеличивает продолжительность жизни экспериментальных животных; позволяет снизить дозу доксорубина, не ослабляя противоопухолевое действие и снижая окислительную нагрузку на организм.

Таким образом, озон в высоких концентрациях при локальном воздействии обладает антиканцерогенным эффектом, а в комплексном использовании с ИИ и ХТ повышает эффективность противоопухолевой терапии.

Т.Г. Щербатюк, В.А. Лазарева,
Д.В. Давыденко, А.В. Масленникова

ЗНАЧЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ИСХОДОВ ЗАБОЛЕВАНИЯ У БОЛЬНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ ОРОФАРИНГЕАЛЬНОЙ ЗОНЫ

Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород

Цель исследования. Изучение процессов перекисного окисления липидов плазмы крови больных с местнораспространенным раком орофарингеальной зоны с возможным определением их прогностического значения.

Материалы и методы. За период с октября 2005 г. по ноябрь 2008 г. в исследование было включено 87 больных в соответствии со следующими критериями: гистологически подтвержденный плоскоклеточный рак полости рта, ротоглотки и гортаноглотки III–IV стадии; отсутствие отдаленных метастазов; отсутствие в анамнезе специфического лечения по поводу данного заболевания; соответствие общего состояния больных 0–1 по шкале ECOG; возраст старше 18 лет; удовлетворительные гематологические и биохимические показатели.

Анализ показателей выживаемости и процессов перекисного окисления липидов осуществлялся с ноября 2009 г. (т.к. минимальный срок наблюдения 12 мес.) по март 2010 г.

В плазме крови больных исследовались следующие параметры активности свободнорадикальных процессов: индуцированная хемилюминесценция плазмы крови, (регистрировали $I_{\max}$ – максимальную интенсивность свечения исследуемой пробы, отражающую общую свободнорадикальную активность образца плазмы (Кузьмина Е.И., 1983)), концентрация малонового диальдегида (МДА) и триеновых конъюгатов (ТК); определяли уровень вязкости плазмы крови на ультразвуковом микровискозиметре (ИПФРАН, г. Нижний Новгород).

Результаты и выводы. Выявлено наличие скрытой неоднородности среди онкологических больных, формально относящихся к одной прогностической группе. Продукты перекисного окисления липидов и вязкость плазмы крови позволяют индивидуально прогнозировать исход заболевания у пациентов с опухолями орофарингеальной зоны еще до начала лече-

ния. Рассчитана специфичность комплекса прогностических критериев: если выполнено хотя бы одно из условий (МДА выше 5,74 или отношение $I_{\max}$ /МДА ниже 0,30 или $I_{\max}$ ниже 1,60 или вязкость выше 2,0), то прогноз неблагоприятный.

Рассчитаны основные характеристики диагностического теста: чувствительность – 78 %; доверительный интервал ($p < 0,05$) (64 %; 100 %); специфичность – 83 %; доверительный интервал ($p < 0,05$) (70 %; 95 %).

Т.Л. Юркишвили¹, П.М. Бычковский¹, Н.В. Голуб¹,
В.А. Алиновская¹, Р.И. Костерова¹, С.А. Беляев¹,
А.А. Кладиев², С.А. Красный³, Ю.П. Истомин³,
Е.Н. Александрова³, М.Ю. Ревтович³, А.И. Шмак³

ВЛИЯНИЕ ГЕЛЕОБРАЗУЮЩЕГО ПРЕПАРАТА ПРОСПИДИНА НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ КРЫС С ГЕПАТОМОЙ ЗАЙДЕЛЯ

¹Учреждение БГУ «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем», Минск

²ООО «Биотехнологическая компания ТНК», Москва

³ГУ «РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова», Минск

Цель исследования. Изучение эффективности нового гелеобразующего препарата проспицина в лечении животных с гепатомой Зайделя.

Материалы и методы. Медико-биологические испытания были проведены на 114 белых беспородных крысах весом 120–160 г с перевитой асцитной гепатомой Зайделя.

Эксперименты выполнены через 24 ч после внутрибрюшинной перевивки опухоли. В контрольной и опытной группах использовали по 10 крыс.

В качестве противоопухолевых препаратов были использованы: гидрогель ФД, содержащий фосфорнокислые и карбаматные группы, гелеобразующий препарат (массовое соотношение проспицин:

ФД = 1 : 1; 1 : 2; 1 : 1,3; 1 : 1)

и инъекционная форма проспицина. Препарат проспицина в инъекционной форме и в виде гидрогелей (в дозах от 250,0; 500,0; 750,0 и 1000,0 мг/г), а также гидрогель ФД (в дозах 500 и 1000 мг/г) вводили крысам однократно внутрибрюшинно (в объеме 1 или 2 мл на каждые 100 г веса животного).

Критериями оценки противоопухолевого эффекта являлись: динамика изменения массы тела крыс (ежедневное взвешивание), средняя продолжительность жизни (СПЖ), число павших и число излеченных животных.

Результаты. Проведенные исследования показали, что все лекарственные формы вызывают торможение прироста массы тела крыс с асцитной гепатомой Зайделя, а также достоверно повышают их СПЖ.

Противоопухолевый эффект всех препаратов является дозозависимым, т.е. с увеличением доз лекарственных форм проспицина и гидрогеля ФД средняя продолжительность жизни крыс повышается.

Гелеобразующая форма проспицина обладает более выраженным противоопухолевым действием по сравнению с инъекционной формой по всем изученным критериям оценки. В испытаниях гелеобразующего препарата проспицина в дозе 500 мг/г у 10 крыс (100 %) возникла ремиссия рака в течение двух месяцев наблюдения, при терапии инъекционной формой (доза 500,0 мг/г) уровень смертности крыс составил 40 %; ФД в дозе 1000,0 мг/г – 90 %.

Выводы. Приведенные данные свидетельствуют о более высокой эффективности и переносимости нового гелеобразующего препарата проспицина по сравнению с инъекционной формой при лечении животных с перевитой асцитной гепатомой Зайделя.

Г.М. Юсубалиева, В.П. Баклаушев, О.И. Гурина, М.В. Гуляев, В.П. Чехонин
МКА К ЭКСТРАКЛЕТОЧНОМУ ФРАГМЕНТУ КОННЕКСИНА-43 – ПРО-ИЛИ ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ПРИ НИЗКОДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ ГЛИОМАХ
 ФГУ «ГНЦ ССП им В.П. Сербского» Минздравсоцразвития, Москва

Эффективность существующих методов терапии пациентов со злокачественными глиомами крайне недовлестворительна. Перспективным подходом является применение гуманизированных моноклональных антител к белкам, ассоциированным с опухолевым ростом и инвазией. Одним из белков-мишеней для проведения иммунотерапии низкодифференцированных глиом является белок щелевых контактов коннексин-43 (Cx43). Этот белок образует межклеточные щелевые контакты, позволяющие клеткам осуществлять адгезию и обмениваться различными внутриклеточными мессенджерами.

Существуют две альтернативные точки зрения на участие коннексина-43 в развитии глиомы. Согласно одной из них – этот белок может участвовать в процессе глиомной инвазии, активируя ее путем образования гетерологичных щелевых контактов между мигрирующими глиомными клетками и реактивными астроцитами.

Цель данной работы – оценить как блокирование щелевых контактов с помощью внутривенного введения моноклональных антител к Cx43 влияет на развитие низкодифференцированной глиомы.

Тридцать крыс с экспериментальной внутримозговой глиомой были поделены на три группы по десять животных. Первой группе внутривенно вводили моноклональные антитела к экстраклеточному фрагменту Cx43, второй и третьей – неспецифические иммуноглобулины мыши и плацебо. Оценивали объем глиомы с помощью МРТ-исследований в динамике и выживаемость животных с помощью функции Каплан-Майера.

Результаты динамической морфометрии показали достоверное замедление роста глиом на фоне терапии антителами к Cx43. Средний объем глиомы крыс, получивших терапию, оказался в два раза меньше объема опухоли крыс в контрольных группах. Анализ выживаемости показал, что крысы, получавшие антитела к Cx43, достоверно пережили контрольных крыс. Несколько крыс с глиомой С6 после терапии антителами полностью выздоровели и по истечении нескольких месяцев произвели потомство.

Проведенное экспериментальное исследование показало противоопухолевую активность внутривенного введения антител к Cx43. Несмотря на снижение уровня экспрессии Cx43 в низкодифференцированных глиомах, этот белок, вероятно, играет определенную роль в глиомной инвазии. Вероятный механизм действия антител – блокирование образования гомо- и гетерологичных щелевых контактов Cx43-позитивных глиомных клеток в зоне перитуморальной инвазии.

Н.П. Яворская, И.С. Голубева, Е.И. Михеевич
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ДОЗЫ И ОПТИМАЛЬНОГО РЕЖИМА ДОЗИРОВАНИЯ ЦИФЕТРЕЛИНА ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ
 РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Введение. Аналог соматостатина цифетрелин, синтезированный лабораторией химического синте-

за НИИ ЭДито РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН, продемонстрировал гормональную и выраженную противоопухолевую активность у животных в широком диапазоне доз при различных путях введения. Анализ полученных данных позволил выбрать пероральный путь введения как оптимальный. Была доказана целесообразность дальнейшего его изучения и разработки лекарственной формы.

Цель исследования. Определить терапевтическую дозу и оптимальный режим дозирования цифетрелина при пероральном введении.

Материалы и методы. В опытах использованы мыши линии CBA/Lac, BALB/C, гибриды BDF1 массой 18,0–21,0 г и перевиваемые модели опухолевого роста: аденокарцинома толстого кишечника АКАТОЛ, эпидермоидная карцинома легких Льюис (LLC), рак шейки матки РШМ-5, аденокарцинома молочной железы Ca755, меланома В-16.

Лечение начинали через 48 ч после перевивки. Критериями эффективности служили торможение роста опухоли (ТРО, %) и увеличение продолжительности жизни (УПЖ, %). Цифетрелин вводили перорально в 1% крахмальном клейстере в виде субстанции и в виде прототипа лекарственной формы.

Результаты. Противоопухолевая активность субстанции цифетрелина при пероральном введении изучена в широком диапазоне доз от 0,1 мг/кг до 120 мг/кг при пятикратном режиме с интервалом между введениями 24 ч. В этом режиме была установлена оптимальная терапевтическая доза – 1 мг/кг, которая и была заложена в прототип лекарственной формы для дальнейшего изучения режимов дозирования.

Установлено, что препарат в дозе 1 мг/кг при пятикратном введении с интервалом 24 ч обладает выраженным противоопухолевым действием на изученных моделях опухолей – 72–85 % ТРО.

Эффект стойкий и длительный, сохраняющийся в течение всего периода наблюдения после окончания лечения (29 суток) на уровне 57–59 % ТРО. Введение препарата в дозе 10 мг/кг не приводит к увеличению ТРО и продолжительности жизни по сравнению с дозой 1 мг/кг.

Анализ полученных данных после изучения эффектов цифетрелина в дозах 10 мг/кг и 1 мг/кг при разных режимах введения (5 и 10 дней с интервалом 24 ч, 2 курса по 5 дней через 24 ч с интервалом между курсами 7 и 10 дней, 3–4 курса 1 раз в 7 дней) позволяет выбрать оптимальный режим применения цифетрелина – 1 мг/кг перорально 1 раз в 7 дней 3–4 курса. Курсовая доза препарата составляет 3–4 мг.

При этом режиме введения торможение роста опухоли РШМ-5 на 5-й день от начала лечения – 79 %. Противоопухолевый эффект сохраняется на уровне 51 % до 41 дня после начала лечения, УПЖ 16 %. При лечении мышей с Ca755 противоопухолевый эффект составляет соответственно 87 % и 50 % на 5-й и 17-й день от начала лечения, УПЖ 28 %. На модели АКАТОЛ значение ТРО составляло соответственно 70 % и 51 % на 5-й и 37-й день наблюдения, УПЖ 27 %. Во всех экспериментах в указанные сроки наблюдения гибели животных отмечено не было.

Использование режима пятикратного введения с интервалом 24 ч 2 курса (с интервалом между курсами 7 и 10 дней) не показало преимуществ перед выбранным режимом.

Выводы. Полученные результаты позволяют рекомендовать в качестве оптимального для лечения выбранных опухолей режим дозирования цифетрелина 1 мг/кг 1 раз в 7 дней, 3–4 курса.

Е.В. Ярославцева-Исаева, М.А. Каплан, В.Н. Капинус,
И.С. Спиченкова, А.М. Шубина, Е.В. Горанская,
О.А. Скугарева

МЕТОДИКИ ФДТ

БАЗАЛЬНО-КЛЕТОЧНОГО РАКА КОЖИ Т₃₋₄

ФГБУ МРНЦ Минздрава России, Обнинск

Несмотря на достаточно высокую эффективность терапии базально-клеточного рака кожи (БКРК), возникают сложности лечения образований более 5 см. С одной стороны, таких пациентов немного (в 2009 г. выявлено БКРК Т₃ – 3,5 %, Т₄ – 0,7 %), но их лечение часто требует применения комбинированных методов.

Цель исследования. Оценить эффективность методик фотодинамической терапии с фотосенсибилизатором Фотолон больных базально-клеточным раком кожи Т₃₋₄.

Материалы и методы. С 2005 по 2010 г. провели лечение 32 больным, БКРК Т₃ (n=25): первичных больных было 10, рецидивы – у 15. БКРК Т₄ (n=7): первичные больные – 3, рецидивы – у 4. Использовали фотосенсибилизатор Фотолон (АО «Белмедпрепараты») в дозе 0,6–1,9 мг/кг. Методики: 1. Дистанционная фотодинамическая терапия (ФДТ) (n=19), количество сеансов от 2 до 6, E=200–400 Дж/см². 2 ФДТ в комбинации с интерстициальным облучением (ФДТ+ИФДТ) (n=5), использовали диффузоры длиной 1,0 и 1,5 см, мощность излучения 150–200 мВт, время воздействия 15–25 мин.

3. ФДТ в комбинации с лучевой терапией, СОД=40Гр (ФДТ+ЛТ) (n=6). 4. ФДТ в комбинации с электрохимическим лизисом (ФДТ+ЭХЛ) (n=1).

Результаты. Полную регрессию БКРК Т₃ наблюдали у 21 (84 %) пациента, частичную – у 4 (16 %). У 6 из 25 пациентов (24 %) БКРК Т₃ возник рецидив через 1–2,5 года после лечения, остальные наблюдаются от 6 мес. до 5 лет. Пациентам с частичной регрессией и выявленными рецидивами проведен повторный курс лечения, у 7 достигнута полная регрессия, наблюдаются без рецидива 1 год. Больным БКРК Т₄ лечение проводили с паллиативной целью, у всех получена частичная регрессия, отсутствие прогрессирования в течение 6–8 месяцев. ИФДТ и ЭХЛ позволяет увеличить зону некроза опухоли и сократить сроки лечения. ФДТ в комбинации с лучевой терапией позволяет уменьшить дозу ЛТ и риски развития лучевых повреждений.

Выводы. Применение методик ФДТ БКРК Т₃ позволяет достигнуть полной регрессии в 84 % случаев. Применение методик с паллиативной целью больным БКРК Т₄ позволяет уменьшить размеры опухоли, замедлить сроки прогрессирования, улучшить качество жизни. Отсутствие побочных реакций и осложнений позволяет проводить повторные курсы ФДТ, использование в качестве фотосенсибилизатора Фотолон сокращает сроки соблюдения светового режима до 3 суток. Таким образом, применение методик ФДТ расширяет возможности оказания медицинской помощи больным БКРК Т₃₋₄.

Рабочий семинар МНЦ

Mikhail Berezin¹, Walter J. Akers¹, Samuel Achilefu^{1,2}

OPTICALLY ACTIVE CONTRAST AGENTS IN MOLECULAR IMAGING OF CANCER

¹Department of Radiology

²Department of Biochemistry and Molecular Biophysics, Washington University School of Medicine, 4525 Scott Ave. St. Louis, MO; berezinm@mir.wustl.edu

The early diagnostics and accurate and rapid detection of tumor is of great importance for successful treatment of cancer. Optical imaging has at its disposal diverse contrast mechanisms for distinguishing normal from pathologic processes and tissues. The ability of modern optical techniques in conjunction with optically active contrast agents to image, differentiate and stage tumors as well as monitor the effect of therapy stimulated a great interest in using this technology for medical imaging. Deep tissue optical imaging methods such as based on fluorescence and photoacoustic modalities require near-infrared (NIR) agents absorbing and emitting at 700–900 nm.

Materials and Methods: Our laboratory is involved in the development of NIR tumor specific small molecules and nanoparticles probes. The optical core of the probes is based on cyanine dyes with functional groups for conjugation to biologically active molecules. These probes cover a great range of mechanisms from relatively simple tumor specific targeting constructs to enzyme activatable molecules. The examples of our studies include the design of tumor-avid NIR probes for targeting avb3 and somatostatin receptors overexpressed in tumor cells, caspase-3 and MMP activatable probes and others. We utilize fluorescence steady-state, fluorescence lifetime and photoacoustic imaging and their combinations to improve the contrast and enhance the resolution of the imaging.

Results and Conclusions: With the developed contrast diagnostic probes and optical techniques we were able to detect tumors and sentinel nodes in mice and

rats tumor models. These examples demonstrate the potential of optical molecular probes for in vivo imaging of cancer.

Н.П. Ивановская, Г.М. Сухин, Н.С. Осин

ДЛИТЕЛЬНО

ЛЮМИНЕСЦИРУЮЩИЕ МАРКЕРЫ И МЕТОДЫ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ ПОВЕРХНОСТНЫХ ОПУХОЛЕЙ

ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт биологического приборостроения», Москва

Ранняя диагностика злокачественных новообразований является необходимой предпосылкой для успешного лечения рака. Флуоресцентная диагностика опухолей с использованием фотосенсибилизаторов порфиринового ряда является одним из наиболее перспективных направлений в этой области. Однако фотодинамическая активность металлопорфиринов ограничивает их применение, что вызывает необходимость в разработке специальных приемов регистрации сигнала люминесценции для многократного снижения их концентрации для диагностических исследований.

Целью работы являлось создание инструментальных методов с использованием длительно люминесцирующих соединений класса металлопорфиринов, которые позволили бы снизить уровень аутофлуоресценции и многократно уменьшить концентрацию металлопорфиринов по сравнению с традиционными флуоресцентными диагностическими реагентами.

На мышинной модели *ex vivo* нами было исследовано биораспределение и кинетика накопления в различных органах и тканях платина-копропорфирина (Рт-КП) как в свободном виде, так и в виде его конъюгатов с альфа-фетопротеином (АФП), маркером гепатомы, и моноклональными антителами ICO-1 к лимфоме Беркетта.

Использование высокочувствительной аппаратуры собственной разработки на основе флуориметрии с временным разрешением (ФОСФАН, ИФИ-02) позволило надежно, с высоким контрастом диагностировать наличие опухоли при внутривенном введении препарата в концентрации 0,02 мкг/кг живого веса, что более чем в 1000 раз ниже максимально переносимой дозы [1].

Исследования подтвердили, что более целенаправленной доставке метчика (Pt-КП) в опухоль способствует его связывание с маркером опухоли.

В зависимости от размера и части исследованной опухолевой ткани люминесцентный контраст между ней и нормальной тканью составлял от 3 до 12 раз.

Полученные данные однозначно свидетельствуют о перспективности ранней диагностики эндоскопически доступных опухолей с использованием длительно люминесцирующих маркеров.

Работа поддержана МНТЦ, проект №3065

N.P. Ivanovskaya, G.M. Sukhin, N.S. Osin

LONG-LUMINESCING MARKERS AND METHODS OF SURFACE TUMORS EARLY DIAGNOSTICS

Federal State Unitary Enterprise, State Research Institute of Biological Instrument-Making, Moscow

Early diagnostics of malignant neoplasm is an essential prerequisite for successful medical treatment of cancer. Porphyrin row photosensitizers - based fluorescent diagnosis of tumors is one of the most promising directions in this field.

But the usage of metalloporphyrins is limited by their high photodynamic activity. So, their harmful concentrations should be significantly decreased and specialized equipment capable of weak luminescent signals measuring should be created.

The purpose of this study was to create instrumentation based upon the use of metalloporphyrin group compounds with long-lasting luminescence that would allow the auto fluorescence level to be decreased and significantly lower concentrations of metalloporphyrins (as compared with routine diagnostic fluorescent reagents) to be measured.

Using mice model *ex vivo* we investigated platinum-coproporphyrin (Pt-CP) bio-distribution and kinetics of its accumulation in various organs and tissues; Pt-CP was used both in a free form and as conjugates with alpha-fetoprotein (AFP), the marker of hepatome, and monoclonal antibodies ICO-1 to Burkitt's lymphoma. The use of time-resolved fluorometry-based highly sensitive instrumentation developed by us (PHOSPHAN, IFI-02 scanner devices) provided reliable high contrast diagnostics of tumor at intravenous injection of Pt-CP preparation, 0.02 µg/kg of live weight, that was more than 1000 times as lower as maximal surviving dose.

Our investigations proved out that targeted tracer (PT-CP) delivery to tumors facilitates its binding with tumor markers.

Depending on size and portion of investigated tumor tissue the luminescent contrast between malignant and normal tissue was 3-fold to 12-fold.

Data obtained unanimously evidenced to future prospects of early diagnostics of endoscopically available tumors by use of tracers with long-lasting luminescence.

This work was supported by ISTC's grant N3065.

*В.Г. Певгов¹, А.Г. Федотов¹,
А.Ю. Барышников², А.В. Иванов²*

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ДИНАМИЧЕСКОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА ДЛЯ КОНТРОЛЯ НАНОЧАСТИЦ ПРЕПАРАТОВ В РАСТВОРАХ

¹ООО «Лаборатория оптико-электронных приборов», Москва

²РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Цель исследования. Разработка методики и аппаратуры для контроля параметров наночастиц в жидких средах. Исследование классическими оптическими методами нанометровых объектов в видимом диапазоне длин волн крайне затруднено вследствие дифракционного ограничения. Это приводит к невозможности использования прямых оптических методов для измерения размеров наночастиц, однако оно не накладывает запрета на определение концентрации наночастиц косвенными методами, основанными на наличии рассеяния падающего излучения исследуемыми частицами.

Материалы и методы. Рассеяние света на диффундирующих частицах приводит к появлению соответствующих сдвигов в частоте рассеянного излучения. Характер распределения этих сдвигов определяется геометрическими параметрами диффундирующих частиц. Характерные сдвиги частот рассеянного излучения лежат в диапазоне от 1 Гц до 100 кГц. Метод динамического рассеяния света помимо оперативности и дешевизны проведения измерений позволяет сразу получать статистические распределения размеров исследуемых дисперсий. Большинство современных технологий получения наночастиц предполагают использование процессов в жидкостях. В этом случае предлагаемый метод органично встраивается в технологические цепочки, так как не требует длительных процедур подготовки пробы. Метод незаменим, когда необходимо исследовать нанообъекты, которые существуют только в виде растворов и взвесей. К таким нанообъектам относится большинство косметических средств и современных фармпрепаратов. В этом случае метод не имеет конкурентов.

Результаты. Созданы экспериментальные образцы оборудования и разработана методика измерения распределения наночастиц по размерам в растворах. Диапазон измеряемых размеров от единиц десяти тысяч нанометров. Проведены измерения распределения по размерам неорганических наночастиц (кварцевых наносфер, золотых, углеродных, ферритовых и ферромагнитных наночастиц), частиц органической природы (белки, белковолипидные комплексы, полимеры) и некоторых лекарственных форм препаратов (мицеллы, липосомы, фотосенсибилизаторы в растворах и их комплексы с амфифильными полимерами). Предложенная методика позволяет изучать процессы агрегации и дезагрегации соединений в растворах, полимеризации и комплексообразования.

Выводы. Динамическое рассеяние света – современный спектрально-оптический метод для нанотехнологий, который может применяться при исследовании как неорганических наночастиц, так и частиц органической природы, от макромолекул, белковых комплексов и специализированных нанокомпозиций до микроорганизмов. Разработанная аппаратура может использоваться на всех технологических этапах производства жидких форм лекарственных препаратов.

Работа выполнена частично при поддержке МНТЦ, проект № 3065, и при поддержке Министерства образования и науки РФ, ГК № 02.523.11.3020 от 11 ноября 2009 г.

V.G. Pevgov¹, A.G. Fedotov¹, A.Yu. Baryshnikov², A.V. Ivanov²
**USE OF DYNAMIC LIGHT SCATTERING
 FOR CONTROL OF NANOPARTICLES
 IN SOLUTIONS**

¹JSC "Laboratory of optical and electrical devices",
 Moscow
²N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS,
 Moscow

Goal. Research of nanometer objects on visual wavelength scale by classical optical means is quite complicated due to diffraction limitations. This leads to impossibility of using direct optical methods for measuring nanoparticle sizes, but does not impose a prohibition on measuring concentration of nanoparticles by indirect means based on effect of scattering of incoming radiation by the particles undergoing research.

Method. Light scattering on diffusing particles leads to appearance of shifting in frequency of diffused radiation. Pattern of diffusion is defined by geometric parameters of diffusing particles. Peculiar shifts of frequencies of diffused radiation lie in between 1Hz and 100kHz. Method of dynamic light scattering, aside from effective speed and cheapness of measuring, allows to instantly obtain statistical distribution of sizes of researched dispersions. Majority of modern technologies of obtaining nanoparticles assume usage of multiple processes in liquids. In this case, the suggested method naturally fits into technological chains as it does not require any additional procedures for sample preparation. Method is invaluable when it is necessary to research nanoobjects that exist only as solutions and suspensions. Among such objects are the majority of modern cosmetics and pharmaceutical supplies. In this case, the method has no rivals.

Results. Experimental equipment prototypes were created along with methods of measuring nanoparticle distribution in solutions, according to size of particles. The scale of measured particles goes from ten thousand nanometers. Distribution of non-organic (quartz nanoparticles, golden, carbon, ferrite and ferromagnetic nanoparticles) and particles of organic origin (proteins, protein-lipid complexes and polymers), and several medical items (mycelums, liposomes, photosensitizers in solutions and their complexes with amphibiphilous polymers) were measured. Suggested method allows to study processes of aggregation and disaggregation of compounds in solutions, polymerization and forming of complexes.

Conclusions. Dynamic light scattering – is a modern spectro-optical method for nanotechnologies which can be used in research of non-organic both nanoparticles and particles of organic nature from macromolecule, protein complexes and specialized nanocompositions to microorganisms. Developed equipment can be used on all technological stages of production of liquid forms of medical supplies.

Job partially done with assistance of ISTC, project number 3065, and with support of Ministry of Science and Education of Russian Federation., State Contract number 02.523.11.3020 Year 2009 .November 11.

А.В. Перчик, В.Э. Пожар, Н.С. Власова
**АКУСТООПТИЧЕСКИЙ ПРИБОР
 ДЛЯ ФОТОЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ
 ДИАГНОСТИКИ**

Научно-технологический центр уникального приборостроения РАН (НТЦ УП РАН), Москва

Использование фотолюминесцентных методов анализа в медицине позволяет создавать новые методы и приборы для диагностики и лечения. Основными требо-

ваниями к таким приборам являются чувствительность, компактность, способность работать в разнообразных условиях. При этом получение временных характеристик люминесценции дает новую информацию об объекте и позволяет выделить слабый сигнал на фоне сильной засветки. Все сформулированные требования могут быть реализованы с помощью спектральных приборов на перестраиваемых акустооптических (АО) фильтрах. В рамках проекта 3065 МНТЦ по ранней люминесцентной диагностике рака в НТЦ Уникального приборостроения РАН был разработан АО спектрофлуориметр с временным разрешением (5 мкс). На этом приборе была продемонстрирована возможность отличать опухолевую ткань от здоровой мышечной ткани путем синхронной регистрации фотолюминесценции, вызываемой импульсно-периодическим лазером (532 нм, 20 мкДж/имп., 1000 имп./с) со временем накопления 1 с на спектр. При использовании в качестве фотолюминесцирующего вещества металлокомплекс Рт-копропорфирина III, который накапливается преимущественно в опухолевой ткани, порог обнаружения составлял 20 мкг/кг веса. Такое количество фотолюминесцирующего вещества является нетоксичным и нефототоксичным. Таким образом, этот прибор, имеющий волоконно-оптический вход, может служить прототипом прибора для ранней фотолюминесцентной диагностики эндоскопически доступных форм рака. В настоящее время в рамках Федеральной целевой программы «Кадры» (НК-716 П) ведется разработка действующего макета прибора, включающего в себя импульсно-периодический лазер (532 нм) и синхронизированный высококонтрастный двойной монохроматор на основе АОФ. Планируется создать мобильный прибор с гибким алгоритмом работы, который позволит подобрать оптимальные режимы работы и характеристики прибора.

Работа поддержана МНТЦ, проект №3065.

Alexey Perchik, Vitold Pozhar, Natalia Vlasova
**AOTF-BASED INSTRUMENT
 FOR PHOTOLUMINESCENT DIAGNOSTICS**
Scientific Technological Center of Unique Instrumentation of RAS

Using of photoluminescent analytical methods in medicine makes it possible to create new methods and instruments for diagnostics and therapy. Basic requirements for these instruments are sensitivity, compact design, capability to operate in various conditions. And also, measurement of luminescent decay time provides new information about object and allows to select weak fluorescent signal against strong background illumination. All these requirements can be satisfied with use of spectral devices based on acousto-optical tunable filters (AOTF). In Scientific Technological Center of Unique Instrumentation there was developed AOTF-based spectral device operating in time-resolution mode (5 μ s) for investigation aimed at early luminescent diagnostic of cancer (project 3065 funded by International Scientific Technological Center). It was demonstrated that instrument prototype is capable to distinguish tumour muscle tissue from normal one by synchronous detection of photoluminescence caused by pulse-periodic laser (532 nm, 20 μ J/pulse, 1000 pulse/s) with accumulation time 1 s per spectrum. Detectable threshold was estimated as 20 μ g/kg of weight with use of Pt-coproporphyrin III metal complex as photoluminescence agent, which is accumulated preferably in malignant tissue. Such dose is quite safe for organism regarding both toxicity and phototoxicity considerations. Therefore, this instrument having fiber-optic input can be regarded as prototype device for early tumour diagnostics of endoscope-accessible forms of cancer.

Now with support by Federal scientific program «Kadry» (NK-716P) it has been started development of new mobile device, which comprises pulse-periodic laser (532 nm) and synchronized high contrast double-AOTF monochromator. Variable and adjustable working algorithm suitable for AOTF control is being developed. It will provide opportunity for determining optimum operating mode and device characteristics.

This work was supported by ISTC's grant N3065.

В.Э. Пожар, В.И. Пустовойт, А.С. Мачихин
ПЕРСПЕКТИВЫ
АКУСТООПТИЧЕСКОЙ ВИДЕОСПЕКТРОМЕТРИИ
ДЛЯ ЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ ДИАГНОСТИКИ
В МЕДИЦИНЕ

Научно-технологический центр уникального приборостроения РАН, Москва

Фотолюминесцентные методы исследований все чаще применяются при диагностике и терапии раковых опухолей. При этом особое место отводится системам для анализа не только спектральных, но также и пространственных свойств объектов. Приборы, реализующие данный подход, выгодно отличаются высокая информативность, чувствительность и способность работать в разнообразных, в том числе внелабораторных условиях. Системы регистрации спектральных изображений на основе перестраиваемых акустооптических фильтров (АОФ) не только в полной мере обладают данными свойствами, но также дают такие уникальные возможности, как произвольная спектральная адресация, программируемость и возможность передачи изображений в широком диапазоне длин волн (например, 0,4–0,7 мкм) практически без искажений. Кроме того, высокое спектральное (до 0,1 нм) и пространственное (до $\sim 10^3$ разрешимых элементов по каждой из координат) разрешение, малое время перестройки ($\sim 10^{-3}$ с), чувствительность к поляризации света, компактность и отсутствие подвижных элементов делают данные приборы прецизионным и эргономичным инструментом для разнообразных медицинских исследований. Представляя собой автономный оптический элемент, АОФ может являться не только основой для создания новых приборов, но и встраиваться в оптические схемы различных уже существующих устройств. Например, известные системы на базе АОФ для микроскопических флуоресцентных исследований биомедицинских тканей, для обнаружения опухолевой ткани при введении в организм туморотропного фотолюминесцирующего вещества и других задач. В докладе приводятся схемы, варианты реализации и результаты, полученные данными приборами. В докладе приводится обзор существующих видеосистем на основе АОФ, а также описан разрабатываемый новый перспективный для применения в медицинских целях акустооптический эндоскопический видеоспектрометр, предназначенный для диагностики внутренних тканей и органов. Его основу составляет оптоволоконный зонд, содержащий как регулярно уложенное волокно для передачи изображения, так и нерегулярное волокно – для передачи света от внешнего широкополосного источника. Микрообъектив, установленный на дистальном конце зонда, проецирует изображение на торец волокна. Далее практически без искажений изображение передается по волокну, проходит через АОФ и фокусируется на матричный приемник излучения. Перестраивая фильтр, можно получить спектральное изображение внутреннего органа на задан-

ной длине волны. Введя в оптическую схему светоделительный элемент, можно осуществлять одно-временную регистрацию цветного «широкополосного» и спектрального (после АОФ) изображения. Благодаря развитым к настоящему времени технологиям производства волокна, обеспечивающего малое поглощение света (10^{-2}) и достаточно высокое пространственное разрешение (10^3 волокон), эндоскопические спектрометры на основе АОФ могут стать эффективным инструментом для неинвазивной люминесцентной диагностики при бронхоскопии, гастроскопии, колоноскопии и других методах эндоскопических обследований.

Работа выполнена при поддержке МНТЦ, проект № 3065.

Vitold Pozhar, Vladislav Pustovoyt, Alexander Machihin
PROSPECTS OF AOTF-BASED
SPECTRAL LUMINESCENT IMAGING
IN MEDICAL DIAGNOSTICS

Scientific and Technological Center of Unique Instrumentation RAS, Moscow

Photoluminescence methods are very promising for diagnosis and treatment of cancer tumors. Particularly interesting are the systems capable to analyse not only spectral, but also spatial object properties. Such spectral imaging systems have several very important advantages: high sensitivity and working capacity in different conditions even in out-of-lab environment. Spectral imaging systems based on acousto-optical tunable filters (AOTFs) not only possess all these properties, but also provide unique set of features such as arbitrary spectral access, programmability and image transmission with insignificant distortion in wide spectral range. High spectral (~ 0.1 nm) and spatial (up to $10^3 \times 10^3$) resolution, fast spectral tuning ($\sim 10^{-3}$ s), polarization sensitivity, compactness and absence of moving elements allows these systems to be precise and ergonomic tool for various medical research. As an autonomous optical element AOTF may be not only the base for new devices development but also can be integrated into optical schemes of existing systems. For example, there are AOTF-based imaging systems for microscopic fluorescence diagnostics of biomedical objects, detection of tumors after injection of photoluminescence substances and other applications. The report contains optical diagrams, device structure and obtained results. It is presented review of modern AOTF-based imaging systems and also it is described new type of AOTF-based imaging systems promising for biomedical applications.

This endoscopic spectrometer for spectral visualization of internal tissues and organs that is now being developed in STC UI RAS. It is based on the fiber-optic probe that contains regular-packed fibers for image transmission and fibers for illumination from external wide-band light source. Lens at the distal end of the probe projects image on the face edge of fiber probe.

Then image is transmitted through regular-packed fibers almost without distortion, goes through AOTF and is focusing on the video camera sensor. AOTF tuning allows to register spectral image at required wavelength. If split element is used it is possible to get simultaneously non-diffracted "white" image and spectral image.

Modern fiber-optic technologies provide high quality of probes, i.e. small light absorption and sufficiently high image resolution (thousands of fibers). Therefore, endoscopic AOTF-based imaging spectrometers may become effective tool for non-invasive luminescence diagnostics during bronchoscopy, gastroscopy, colonoscopy and other methods of endoscopic inspection.

This work was supported by ISTC's grant N3065.

В.Д. Румянцева¹, И.П. Шилов¹, А.И. Панас¹,
В.М. Маркушев¹, А.Ф. Миронов²,
А.В. Иванов³, А.Ю. Барышников³
**НЕФОТОТОКСИЧНЫЕ ИТТЕРБИЕВЫЕ
МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСЫ ПОРФИРИНОВ
КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ МАРКЕРЫ
ДЛЯ ИК-ЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ
ДИАГНОСТИКИ РАКА**

¹Институт Радиотехники и Электроники им. В.А. Котельникова РАН, Фрязинский филиал

²МАТХТ им. М.В. Ломоносова, Москва

³РОНЦ им. Н.Н. Блохина, Москва

Цель исследования. Разработка метода люминесцентной диагностики визуально и эндоскопически доступных форм рака в ИК-диапазоне спектра на основе нефототоксичных иттербиевых комплексов порфиринов.

Такие субстанции практически не генерируют синглетный кислород и в то же время имеют высокие люминесцентные характеристики при сохранении туморотропных свойств терапевтических фотосенсибилизаторов (ФС).

Материалы и методы. Нами синтезированы Yb-комплексы октабром- и пентафторфенил-, тетрапиразолил-замещенных порфиринов наряду с традиционными комплексами тетраарил-порфиринов и природными порфиринами, а также изучены их электронные и люминесцентные спектры.

Измерения спектров поглощения синтезированных комплексов проводили на спектрофлуориметре LS-5B, Perkin Elmer.

Изучение люминесцентных и временных характеристик Yb-комплексов осуществлялось на стробоскопическом экспериментальном измерительном стенде, разработанным в ИРЭ им. В.А. Котельникова РАН.

Исследование фармакокинетики водорастворимой дикалиевой соли Yb-2,4-диметоксигематопорфирина IX в организме intactных мышей и мышей-опухоленосителей проводилось на мышцах-самках линии Balb/C с привитой под кожу правого бока саркомой 37.

Исследования люминесцентного диагностического контрастного индекса (ЛДКИ) проводились на макетном волоконно-лазерном онкофлуориметре.

Эксперименты осуществлялись на мышцах-самках с привитой опухолью Льюис при дозах препарата на уровне 0,01–10 мг/кг веса.

Результаты. Было показано, что все иттербиевые комплексы порфиринов обладают узкой и достаточно яркой линией люминесценции, которая находится в диапазоне 975–985 нм, где собственная люминесценция биотканей практически отсутствует.

Установлено, что среднее время жизни люминесценции для синтезированных нами Yb-металлокомплексов порфиринов, составляет 5–20 мксек.

При этом для дикалиевой соли Yb-2,4-диметоксигематопорфирина IX достигнут высокий уровень ЛДКИ и накопления в опухоли.

Было показано, что ЛДКИ опухоль/мышца для этой субстанции при дозах 0,5–1,0 мг/кг достигал значений вплоть до 10,0.

Следует также отметить, что кожные реакции при вводимых дозах субстанции на уровне 0,5–1,0 мг/кг минимальны (ЛДКИ опухоль/кожа составлял 7–10).

Заключение. Разработан метод и экспериментальное оборудование для люминесцентной диагностики визуально и эндоскопически доступных форм рака в ИК-диапазоне спектра на основе нефототоксичных иттербиевых комплексов порфиринов.

Работа поддержана МНТЦ, проект №3065.

V.D. Romyantseva¹, I.P. Shilov¹, A.I. Panas¹,
V.M. Markushev¹, A.F. Mironov²,
A.V. Ivanov³, A.Yu Baryshnikov³

**NON-PHOTOTOXIC YTTERBIUM
METAL COMPLEXES OF PORPHYRINS
AS PERSPECTIVE MARKERS
FOR IR-LUMINESCENT CANCER DIAGNOSTICS**

¹Institute of Radioengineering and Electronics named after V. A. Kotel'nikov of RAS, Frjazino department

²M.V. Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology, Moscow

³N.N.Blokhin Russian CRC of RAMS, Moscow

Purpose. Development of luminescent diagnostics method of the visually and endoscopically reachable tumors in the IR-spectral range on the base of non-phototoxic ytterbium complexes of porphyrins. Such substances practically do not generate singlet oxygen and at the same time have high luminescent characteristics and retain the tumor-tropic properties of the therapeutic photosensitizers (PSs).

Materials and methods. We synthesized Yb-complexes of octabrom- and pentafluorinephenyl-, tetrapyrzoly-substituted porphyrins along with traditional complexes of tetraaryl-porphyrins and several natural porphyrins and also have studied their electronic and luminescent spectra. Measurement of synthesized complexes absorption spectra was performed at spectrofluorimeter LS-5B, Perkin Elmer. Study of luminescence and temporal parameters of Yb-metal-complexes was carried-out at experimental measuring stroboscopic test-bench prototype developed in IRE RAS. Investigation of pharmacokinetics of Yb-2,4-dimethoxygematoporphorin IX water soluble dipotassium salt in intact mouse organism and mice-tumourcarriers were held on mice-females of Balb/C line with under skin right side implanted 37 sarcoma.

The investigations of the luminescent diagnostic contrast index (LDCI) were carried-out at prototype fiber-laser oncofluorometer (FLOF). Experiments were performed on female mice with implanted Lewis tumour under medication doses at the level 0,01-10mg/kg.

Results. It was demonstrated that all ytterbium complexes of porphyrins possesses narrow and quite bright luminescence line, which located in the range 975-985 nm, where biotissues auto-luminescence is practically absent. It is ascertained that average lifetime for Yb-metal-complexes, synthesized by us, amounts to 5-20 μ s. High level of the luminescent contrast and tumor accumulation for Yb-complex 2,4-dimethoxyhematoporphyrin IX water soluble dipotassium salt were achieved. It was shown that tumour/muscle LDCI for this substance in medication doses interval 0.5-1.0 mg/kg reached about 10.0. It should also be noted that skin reactions under doses 0.5-1.0 mg/kg are minimum (LDCI of tumour/skin is at the level 7-10).

Conclusions. Method and experimental equipment for luminescent diagnostics of the visually and endoscopically reachable tumors in the IR-spectral range on the base of non-phototoxic ytterbium complexes of porphyrins were developed.

This work was supported by ISTC's grant N3065.

В.Д. Румянцева¹, Н.В. Рощина¹, Л.Д. Федорова¹,
А.Ф. Миронов¹, В.М. Маркушев², И.П. Шилов²

**СИНТЕЗ
И СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
ИТТЕРБИЕВЫХ КОМПЛЕКСОВ
НЕСИММЕТРИЧНЫХ
ТЕТРААРИЛПОРФИРИНОВ**

¹Московская государственная академия тонкой
химической технологии им. М.В.Ломоносова

²Институт радиотехники и электроники им. В.А.
Котельникова РАН, Фрязинский филиал

Цель работы. Амфифильные молекулы порфиринов, содержащие гидрофобные и гидрофильные группы, показывают лучшее селективное накопление в опухоли, особенно, если полярные и неполярные группы расположены несимметрично.

Материалы и методы. Нами синтезированы различными способами мезо-арилзамещенные порфирины, содержащие три метоксикарбонилфенильные группы, а в качестве четвертого заместителя взяты либо 4-гидроксифенильный и 4-гидрокси-3-метоксифенильный радикалы, либо изомерные 3- и 4-пиридилные остатки. Исследовано влияние условий проведения реакций на количественное соотношение продуктов реакций и выходы целевых соединений. За счет модификации гидроксильной группы получены простые эфиры с монометилловым эфиром триэтиленгликоля и 1,4-дибромбутаном. Получены N-метилпиридилные производные изомерных монопиридилпорфиринов. Триметилловые эфиры щелочным гидролизом были превращены в соответствующие трикислоты. Затем на основе как триэфиров, так и трикислот были приготовлены соответствующие гидрофобные и гидрофильные иттербиевые комплексы несимметричных порфиринов. Электронные спектры записывали на спектрометре Jasco 7800 (Япония). Спектры флуоресценции Yb-комплексов измеряли в ближней ИК-области.

Результаты. Изучение спектров люминесценции и кинетики затухания Yb-металлопорфиринов в ДМСО показало, что времена жизни для триэфиров в 3-5 раз выше, чем в случае соответствующих трикислот.

Заключение. Эти соединения могут служить маркерами в люминесцентной диагностике злокачественных опухолей.

Работа выполнена при поддержке гранта МНЦ
№ 3065

V.D.Rumyantseva¹, N.V.Roshchina¹, L.D.Fedorova¹,
A.F.Mironov¹, V.M.Markushev², I.P.Shilov²

**SYNTHESIS
AND SPECTRAL CHARACTERISTIC
OF YTTERBIUM COMPLEX
ASYMMETRIC TETRAARYLPORPHYRINS**

¹Lomonosov Moscow State Academy of Fine Chemical
Technology

²Kotel'nikov Institute of Radioengineering and Elec-
tronics RAS, Russia, Fryazino department

Purpose. Amphipath molecules of porphyrins, containing hydrophobic and hydrophilic groups, show the best selective accumulation in tumor, especially, if polar and unpolar groups are located asymmetrically.

Materials and methods. We have synthesized by various methods meso-arylsusbsistent porphyrins, having three methoxycarbonylphenyl groups, and with whether 4-hydroxyphenyl and 4-hydroxy-3-methoxyphenyl radicals whether isomeric 3- and 4-pyridyl tailings as fourth susbsistent. Influencing of conditions, at which the reac-

tions are carried out, on quantitative proportion of products of reactions and yields of aimed compounds have been researched. Esters with monomethyl ester of triethyleneglicol and 1, 4-dibrombutane have been obtained by modification of hydroxyl group. N-methylpyridyl derivatives of isomeric monopyrityldiporphyrins have been received.

Trimethyl esters were converted in appropriate triacids by basic hydrolysis. Then on basis both trimethylesters and triacids appropriate hydrophobic and hydrophilic ytterbium complexes of asymmetric porphyrins have been prepared. UV-Vis spectra were obtained on spectrometer Jasco 7800 (Japan). Luminescent spectra were recorded in near IR-region.

Results. Studying of luminescent spectrum and kinetic of fadings of metalloporphyrins in DMSO showed that lifetimes for tri-esters higher in 3-5 times, then for appropriate triacids. It is likely, that this phenomenon is caused by founding hydrogen bonds of acids and electronodonor tailings in solutions.

Conclusions. These compounds would to be markers in luminescent diagnostic of malignant tumors.

This work was funded by ISTC foundation
(project 3065).

David L. Cedeño¹, Viviana M. Taylor²,
Diana L. Muñoz², Sara M. Robledo²,
Marjorie A. Jones¹, Timothy D. Lash¹, Iván D. Vélez²

**PHOTODYNAMIC THERAPY
OF CUTANEOUS LEISHMANIASIS**

¹Department of Chemistry, Illinois State University,
Normal, IL USA.

²Universidad de Antioquia, PECET-School of Medicine,
Medellin, Colombia.

Background. Leishmaniasis is a disease caused by the infection of macrophages and other phagocytes by parasites of the genus *Leishmania*. Leishmaniasis affects more than 12 million people around the world, although it is estimated than 300 million people are at risk in 88 countries around the world. Leishmaniasis manifest clinically as cutaneous, mucocutaneous and visceral. The first two are non-lethal but affect dermal and mucous tissue that causes disfiguring scars. Visceral leishmaniasis is 100% lethal if untreated. Current treatment relies heavily on toxic pentavalent antimonial compounds that also require clinical care for a month. Parasites have also become resistant to this medication. Alternatives such as amphotericin B and paromomycin are also toxic and expensive. Therefore, there is a need for alternative treatments that would be less toxic and cheaper. Photodynamic therapy treatment of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis has been approached as such alternative by some groups around the world including us.

Materials and Methods. Carbaporphyrin diethyl and dimethyl ketals as well as monoacenaphthoporphyrin and diacenaphthoporphyrins were used as photosensitizers. These compounds show potential as photosensitizers for photodynamic therapy based on their formation of reactive oxygen species. Both solutions and liposomal formulations of the compounds were used in the *in vitro* assays. Dark cytotoxicity and photoinduced toxicity were evaluated in U937 promonocytes and hamster peritoneal macrophages. *In vitro* effectiveness of the compounds was determined against axenic and intracellular amastigotes of *Leishmania* species that causes cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis in the Americas. The compounds were also tested *in vivo* using the golden hamster model for cutaneous leishmaniasis.

The photodynamic effect was evaluated by exposing cultures and animals to visible light from fluorescent lamps.

Results and Conclusion. Compounds tested in vitro are effective against axenic and intracellular parasites in the dark, but as expected they are more effective when cultures were exposed to 2 h and 4 h of visible light per day. Effectiveness (EC_{50}) of carbaporphyrin dialkyl ketals against axenic amastigotes was in the 0.2-1.3 μM range against *L. amazonensis* and *L. panamensis* when cultures were exposed for 2 h of visible light, but *L. infantum* was more resistant ($EC_{50} > 8 \mu M$) under the same conditions. Liposome formulations of the compound improved the effectiveness, particularly on *L. infantum*, where the EC_{50} went down to 4.3 μM . Acenaphthoporphyrins were less effective ($\sim 5-10 \mu M$) under the same conditions. Compounds were less effective against intracellular parasites of *L. amazonensis* (20-30 μM for acenaphthoporphyrins and 10-15 μM for carbaporphyrin ketals). All compounds tested were not selective towards U937 cells, but some promising selectivity was shown when hamster peritoneal macrophages were used ($CL_{50} \sim 200 \mu M$ for carbaporphyrin dialkyl ketals and $\sim 40 \mu M$ for acenaphthoporphyrins). The *in vivo* experiments were quite promising, as all animals involved in the assays showed healing within 15 days after treatment and $>90\%$ of animals were completely healed after 50 days of treatment.

А.Б. Соловьева¹, Н.А. Аксенова¹, Н.Н. Глаголев¹,
В.В. Кардунян¹, А.И. Иванов²

ВОЗМОЖНЫЙ МЕХАНИЗМ ВЛИЯНИЯ АМФИФИЛЬНЫХ ПОЛИМЕРОВ НА ФОТОДИНАМИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ

¹ИХФ им. Н.Н. Семенова РАН, Москва

²РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Ранее было показано, что низкотоксичные амфи-фильные полимеры, в том числе, поли-4-винилпирро-лидон (ПВП), полиэтиленоксид (ПЭО) и плуроник F127 способны увеличивать активность ПФС, снижая при этом используемые дозы препарата, при фотоди-намическом воздействии на опухолевые клетки и опу-холи поверхностной локализации у крыс, а также при фотодинамической терапии гнойных ран [патенты РФ №2314806, 2008, 2396994, 2010].

Особенности воздействия полимеров на активность ПФС в процессе фотогенерации синглетного кислорода можно проводить в модельных условиях в реакции фотоокисления триптофана.

Целью данной работы было исследование влияния ПВП, ПЭО и плуроника F127 на фотокаталитическую активность водорастворимых ПФС разной природы в реакции фотоокисления триптофана.

В качестве фотосенсибилизаторов использовали N-метил-ди-D-глюкаминую соль хлорина e_6 (фотоди-тазина, ФДН) (производство ООО «Вета-Гранд», Рос-сия), динатриевую соль 2,7,12,18-тетраметил-3,8-ди(1-метоксиэтил)-13,17-ди(2-оксикарбонил этил) порфи-рина (димерин, ДМГ) (синтезирован в Институте ме-дицинской и биологической химии РАМН д.х.н. По-номаревым Г.В.) и {5,10,15,20-тетракис[4-(1-карба-клозо-додекарборан-1-ил) тетрафторфенил] порфи-рин} в виде его цезиевой соли (ТФФП) (синтезирован в ИНЭОС РАН д.х.н. Ольшевской В.Н.).

В работе были определены квантовые выходы Φ_{102} фотогенерации синглетного кислорода в присутствии ДМГ. Оказалось, что введение плуроника в раствор порфирина в D_2O повышает Φ_{102} на 20%. С повыше-нием Φ_{102} , очевидно, связано наблюдаемое увеличе-ние константы скорости фотоокисления гистидина в D_2O в присутствии ДМГ при добавлении плуроника.

Введение амфифильных полимеров в реакционные системы, содержащие ДМГ, ФД и ТФФП, приводит к увеличению скорости реакции фотоокисления трипто-фана в воде. Наиболее сильное влияние на константы скорости фотоокисления вызывает добавление ПВП, который обладает, очевидно, лучшей способностью к связыванию с ПФС. Известно, что ПВП взаимодейст-вует с рядом ароматических соединений – аминами, красителями, имеющими отрицательный заряд. По-скольку молекулы исследуемых порфиринов содержат гидрофобное порфиновое ядро и периферийные гидро-фильные кислородсодержащие группировки, то, оче-видно, взаимодействие ПФС с ПВП происходит наибо-лее эффективно.

Таким образом, совокупность представленных дан-ных позволяет предположить, что в присутствии ам-фифильных полимеров в водных средах происходит разрушение ассоциатов порфириновых молекул благо-даря образованию комплексов полимер-ПФС. Такое разагрегирование ПФС приводит к росту их фотоката-литической активности в процессах генерации 1O_2 и окисления субстратов.

В данной работе также обнаружено, что актив-ность системы ФДН-АП-ГА в фотогенерации 1O_2 за-висит от механизма связывания ПФС наночастицами ГА, природы полимера и экстремально зависит от содержания ГА в системе. Показано также, что размер наночастиц ГА после иммобилизации комплексов практически не меняется.

Оказалось, что при введении на 1 мас.часть (м.ч.) фотодитазина и 6 м.ч. полимера 10^{-3} м.ч. гидроксиа-патита каталитическая активность ПФС возрастает на 30–40 % в модельной реакции фотоокисления трип-тофана. При дальнейшем увеличении содержания ГА в системе активность фотодитазина уменьшается.

Такое возрастание, возможно, связано со стабили-зацией в результате иммобилизации на наночастицах ГА наноразмерных агрегатов ФДН, поскольку с рос-том размеров агрегатов порфириновых фотосенсиби-лизаторов в растворе их активность в растворе уменьшается.

А.Б. Соловьева¹, Н.А. Аксенова¹, Н.Н. Глаголев¹,
В.В. Кардунян¹, А.И. Иванов²

PROBABLY MECHANISM OF AMPHIPHYLIC POLYMERS INFLUENCE ON SENSITIZERS PHOTODYNAMIC ACTIVITY

¹N.N. Semenov Institute of Chemical Physics, RAS, Moscow

²N.N. Blokhin Russian CRS of RAMS, Moscow

We had studied the influence of immobilized com-plexes AP-PD of singlet oxygen (1O_2) photogeneration efficiency in model tryptophan photooxidation process and in PDT of rat's gunshot wounds and of complicated patient burns.

Previously it has been shown that some of AP can in-crease the porphyrin photosensitizing activity in PDT of lab rat's cancer cells and surface tumors. In present ex-periments we find out the dependence between the PD-AP-HA system activity in 1O_2 generation and PD-HA binding mechanism, AP structure and mostly from HA quantity in system.

Also we had demonstrated that there was no signifi- cant change in HA size after complex PD-AP immobiliza- tion. It's turned out that catalytic activity in tryptophan oxidation have increased in 30-40% after introduction of 1 PD max part (mp), 6 AP mp, 10-3 HA.

The PD activity was been reduced after further in-crease of HA concentration in system. Such increase can be connected with stabilization effect resulted from PD aggregate immobilization of HA nanoparticles.

А.Б. Соловьева¹, П.И. Толстых², А.А. Сорокатый²,
Н.Н. Глаголев¹, А.И. Иванов³, Г.И. Исмаилов²

**ФДТ ОБШИРНЫХ ГНОЙНЫХ РАН
И ОЖОГОВ С КОМПЛЕКСАМИ
АМФИФИЛЬНЫЙ ПОЛИМЕР –
ПОРФИРИН, ИММОБИЛИЗИРОВАННЫМИ
НА НАНОЧАСТИЦАХ ГИДРОКСИАПАТИТА**

¹Институт химической физики им. Н.Н. Семёнова
РАН, Москва; anna@polymer.chph.ras.ru

²ФГУ ГНЦ лазерной медицины ФМБА РФ, Москва

³РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Проблема лечения обширных гнойных ран мягких тканей остается трудноразрешимой проблемой, поскольку существующие средства не способны стимулировать в достаточной степени процессы регенерации, в связи с изменением в настоящее время структуры возбудителей гнойных осложнений.

Для лечения ран, сформировавшихся после хирургической обработки гнойного очага, в последнее время применяют лазерную и фотодинамическую терапию (Толстых П.И., Иванян А.В., Дербенев В.А. и др. Практика эффективного использования лазерного излучения в медицине. М., Издательство СМГА, 1995, С. 28.). Суть метода фотодинамической терапии (ФДТ) заключается в использовании фотосенсибилизаторов, веществ, способных накапливаться в патологических тканях и при облучении светом катализировать в них процессы выработки синглетного кислорода. Основные недостатки фотодинамической терапии обусловлены необходимостью использования высоких доз лекарства, приводящих к ряду побочных эффектов, в частности, к длительной фототоксичности и высокой стоимости лечения. Ранее было показано, что нетоксичные амфифильные полимеры (АП), в частности, поливиниловый спирт (ПВС) и плюроник F127 способны увеличивать активность ПФС (в том числе фотодитазина), снижая при этом используемые дозы препарата, при фотодинамическом воздействии на опухолевые клетки и опухоли поверхностной локализации у крыс, а также при фотодинамической терапии гнойных ран (патенты РФ №2314806, 2008, 2396994, 2010).

В данной работе показана эффективность использования полимерных композиций на основе комплексов диглюкамина соли хлорина е6 (фотодитазин, ФД) с амфифильными полимерами, иммобилизованных на наночастицах гидроксиапатита (ГА) в ФДТ трудно заживающих ран и ожогов.

Показано, что при ФДТ с использованием иммобилизованных на ГА комплексов ФД-АП области патологического очага происходит ускоренное очищение ран от раневого детрита и уменьшение микробной обсемененности, наблюдается ускорение перехода воспалительной фазы раневого процесса в репаративную и значительное (на 7-9 суток) сокращение сроков заживления по сравнению с традиционным методом лечения и с ФДТ с использованием холосенса и ФД в составе коммерческого геля. Системы ФД-АП-ГА оказались эффективнее обычно используемых при ФДТ гнойных ран холосенса и фотодитазина в форме геля, возможно, как за счет стабилизации мономерных форм ФД, иммобилизованных на наноразмерном ГА, так и в связи с уменьшением микробной обсемененности раневой поверхности и стимуляцией процессов репарации в присутствии наночастиц ГА.

Работа выполнена при поддержке Российского Фонда фундаментальных исследований, проект 10-02-00381.

A.B. Solovieva¹, P.I. Tolstykh², A.A. Sorokaty²,
N.N. Glagolev¹, A.I. Ivanov³, G.I. Ismailov²

**PHOTODYNAMIC THERAPY
OF INTRACTABLE PURULENT WOUNDS
AND BURNS
WITH PHOTODITAZINE-POLYMER
COMPLEX IMMOBILIZED
ON HYDROXYAPATITE NANOPARTICLES**

¹Semenov Institute of Chemical Physics, RAS, Moscow;
anna@polymer.chph.ras.ru

²State Scientific Center of Laser Medicine, Federal Medical Biological Agency RF, Moscow

³N.N. Blokhin Russian CRC of RAMS, Moscow

Curing of soft tissues pyoinflammatory diseases remains a topical problem today in spite of significant advances of clinical medicine and pharmacology because drug treatment on different stages of wound process is not always successful. There are many antibacterial and wound healing agents but they do not stimulate the processes of regeneration adequately due to the changes of suppurative complication disease-producing factors in modern time. Generally, anti-infective activity of preparations used is not sufficient. Of late years for therapy of wound formed after suppurative focus surgical debridement the laser and photodynamic therapy (PDT) is applied. Photodynamic therapy is based on the photosensitization (PS) activation of molecular oxygen.

Under the action of light, PS is getting excited and transfer the molecular oxygen dissolved in the organism to its chemically active singlet state. The singlet oxygen oxidizes cell components and initiates a cascade of processes resulting in the death of the ill cells. Recently, photodynamic therapy (PDT) has been used for the treatment of festering wounds and trophic ulcers (P.I. Tolstih., A.V. Ivanyan, V.A. Derbenev et.al. The practice of effective use of laser in medicine. Moscow, Publishing house SMGA, 1995, p. 28.). An important advantage of PDT is its ability to affect bacterial cultures that are resistant to antibiotics. However the use of PDT once does not usually guarantee a stable antiseptic effect and can not prevent an external infection of wounds. In addition the use of PDT is restricted by PS phototoxicity, which holds up for a long time (up to two weeks). This is why the problem of reducing of PS dosage is very important. Recently we found out that a local introduction of complexes of PS with amphiphilic polymers (AP), in particular, polyvinyl alcohol, could significantly, by an order of magnitude, increase the PDT efficiency by the PD-treatment of tumors of laboratory animals and of wounds of patients. In this case, lower PS concentrations can be used. Besides the use such complexes in the form of gel allows to carry out the PD-treatment many times. In this case, lower PS concentrations can be used. Besides the use such complexes in the form of gel allows to carry out the PD-treatment many times. (Russian patents №2314806, 2008, 2396994, 2010)

In this paper we had shown the efficiency of chlorine e6 diglucamin salt (photoditazine, (PD)) with amphiphilic polymers (AP) complex immobilized on hydroxyapatite (HA) nanoparticles in photodynamic therapy (PDT) of intractable purulent wounds and burns.

In PDT experiments with PD-AP-HA complex in purulent focus starts speeded up wound cleansing from detritus and decreasing of microbial semination followed by rapid transition of inflamed to restorative phase. Obviously traditional purulent wound healing normally takes 7-9 days longer comparing with method described above.

It turns out that PD-AP-HA complexes became effective than holosens and PD usually applied in PDT in gel form. It could happen because of PD monomer form is stabilized by immobilization on nanoparticles. In addition HA nanoparticles have some bactericidal properties and may reduce of microbial semination of wound surface and stimulate of repatriation process.

In this work we investigated the activity of such PD-AP-HA systems in PDT of patients with thermal burns in Burn Center of Grozny. The use of this system was decreased the time of treatment to a marked degree.

The work is supported by Russian Foundation for Basic Researches (grant 09-03-12-252)

A. Rühm¹, G. Palte¹, W. Göbel², J. Herms³,
M. Götz⁴, H. Stepp¹, R. Sroka¹

**FIBRE-BASED FLUORESCENCE PROBES
FOR THE QUANTITATIVE
STEREOTACTIC MEASUREMENT
OF PHOTOSENSITIZER CONCENTRATION
AND BLOOD VESSEL DETECTION
IN NEUROSURGERY**

¹Laser-Forschungslabor, LIFE Center, University Hospital of Munich, Munich, Germany

²Karl Storz GmbH, Tuttlingen, Germany

³Department of Neuropathology, University of Munich, Munich, Germany

⁴MRC Systems GmbH, Heidelberg, Germany

Within the collaborative NEUROTAX project funded by BMBF we are investigating possible technical solutions for the quantitative interstitial measurement of the protoporphyrin IX (PpIX) fluorochrome concentration in human brain tissue and the detection of indocyanine green (ICG) fluorescence in blood vessels via optical fiber based fluorescence probes.

This should enable a safer and better targeted biopsy in clinical brain tumor diagnostics. PpIX is synthesized by actively proliferating cells after administration of 5-ALA, which renders the PpIX concentration in tissue an important indicator in the detection and staging of glioblastoma tumors. PpIX fluorescence peaks at about 630 nm and can most effectively be excited at about 410 nm.

ICG, on the other hand, circulates in the blood vessels, and an early detection of ICG fluorescence would help to avoid blood vessel puncture during stereotactic interventions. ICG fluorescence peaks at 830 nm and can most effectively be excited at 810 nm.

We are studying and comparing different fiber-based probe concepts for the above purposes, including single-fiber, double-fiber (Hull), multiple-fiber (Müller) and FDPS (fluorescence differential path-length spectroscopy) concepts.

One essential criterion in this comparison is the independence of the obtained PpIX fluorescence yield (for fixed PpIX concentration) from the optical tissue parameters (i.e. the absorption and scattering coefficient), since these optical parameters may strongly vary from region to region and from patient to patient.

After determining the physiologically relevant optical parameter range, the best, i.e. most parameter-independent results were so far obtained using the Hull concept.

The FDPS concept is still under investigation. In the case of blood vessel detection, special two-fibre probe geometries, for example non-parallel fiber end sections, are being investigated with the aim to increase the distance ahead of the distal end of the optical fiber at which blood vessels can already be detected.

One obstacle that has to be overcome here is the strong background from the capillary bed.

Michael Fedorov, Adrian Rühm,
Ronald Sroka, Herbert Stepp

**DEUTSCH-RUSSISCHER
KOOPERATIONSVERBUND
BIOTECHNOLOGIE 2011 – 2013:
BILATERALE ANGEWANDTE
MEDIZINISCHE FORSCHUNG.**

Laser-Forschungslabor, LIFE-Zentrum, Klinikum der Universität München, Marchioninstr. 23, 81377, München, Deutschland

Ziel des Verbundprojektes Deutsch-Russischer Kooperationsverbund Biotechnologie 2011 – 2013 ist die Vernetzung der beteiligten russischen und deutschen Wissenschaftler, Ärzte und Industriepartner im Bereich der klinisch orientierten biotechnologischen und biophotonischen Anwendungen. Eine solche Kooperation hat eine entscheidende Bedeutung bei der Entstehung marktorientierter klinischer Produkte, denen gemeinsame Forschungs- und Entwicklungsaktivitäten zugrunde liegen. Um das Ziel dieses Projektes zu erreichen ist es erforderlich, ein Netzwerk zum Themenschwerpunkt Medical Research (speziell Clinical Research) zu gründen.

Zusammen mit den Verbundpartnern erfolgt eine Suche und strategische Analyse potentieller Netzwerkmitglieder, die nach Aufnahme im Verbund durch das Management des Netzwerkes nachhaltig strukturell vernetzt werden. Ein Austausch von Wissenschaftlern und Ärzten aus den beiden Ländern fördert den Entwicklung, und Ausbau des Netzwerkes und den Technologietransfer.

Drittmittelfinanzierte Kooperationsprojekte zwischen deutschen und russischen Partnern werden angebahnt und die Fördermöglichkeiten werden ausgesucht. Die bereits bestehenden nationalen Vernetzungen der einzelnen Partner werden im deutsch-russischen Kooperationsverbund integriert und dadurch internationalisiert.

Die Biophotonik ist eine weltweite Wachstumsbranche und stellt ein hohes Potential zukunftssträchtiger Wirtschaftsbeziehungen zwischen Deutschland und Russland dar. Die klinische Anwendung der biophotonischen Entwicklungen stellt dabei eine wichtige Komponente für diese Beziehungen dar. Strategische Partnerschaften, insbesondere mit Unternehmen und Institutionen aus Russland, können vor allem für kleine und mittlere Unternehmen einen wichtigen Beitrag zum Erhalt und Ausbau der internationalen Wettbewerbsfähigkeit leisten. Durch die Anwendung neuer diagnostischer und therapeutischer biophotonischer Methoden (z. B. PDT, Fluoreszenzdiagnostik und thermische Laseranwendungen) im klinischen Alltag können Bereiche der personalisierten Medizin erarbeitet werden. Dies gelingt durch die nachhaltige Vernetzung der Industrie- und Forschungspartner aus Russland und Deutschland.

Die wirtschaftliche und wissenschaftliche Komponente der Deutsch-Russischen Kooperation besteht in der Bereitstellung marktfähiger innovativer Produkte in beiden Ländern. Dieses soll ein konkretes Beispiel der gemeinsamen klinischen Forschung in der Onkologie verdeutlicht werden. Das Laser-Forschungslabor ist eine fach- und standortübergreifende, klinisch-orientierte Einrichtung der LMU-München. Als Bestandteil des Klinikums der Universität München, entwickelt das Labor innovatives Equipment für Laseranwendungen und hat ein sehr großes therapeutisches und diagnostisches Potenzial insbesondere auf dem Bereich der fluoreszenzgestützten Diagnostik des Harnblasenkarzinoms in klinischen Studien nachgewiesen. Zusammen mit Forschungskonsortien aus Russland ist die Entwicklung und Etablierung von innovativen, diagnostischen und therapeutischen Verfahren, die auf den Prinzipien der Photodynamik (Interaktion zwischen Licht und sensibilisiertem menschlichem Gewebe) basieren, geplant.



**Академик Российской Академии Медицинских Наук
ВИТАЛИЙ ИВАНОВИЧ ШВЕЦ**

19 марта 2011 г. исполняется 75 лет со дня рождения и 52 года научной и педагогической деятельности известного российского ученого и педагога, видного организатора науки и высшего образования в области лекарственных веществ академика РАМН, доктора химических наук, профессора Виталия Ивановича Швеца.

Вся научная и педагогическая деятельность В.И. Швеца неразрывно связана с Московским институтом (ныне Академией) тонкой химической технологии им.М.В.Ломоносова (МИТХТ), по окончании которого в 1958 г. и учебе в аспирантуре он был оставлен при кафедре химии и технологии тонких органических соединений, где последовательно прошел путь от ассистента, доцента, профессора до первого проректора академии. В 1973 г. защитил докторскую диссертацию, в 1994 г. избран членом-корреспондентом, а в 2004 г. – действительным членом (академиком) РАМН. В 1985 г. В.И. Швец организовал и возглавил в МИТХТ новую, одну из первых в стране кафедр, выпускающих специалистов в области медицинской биотехнологии.

Основная сфера научно-исследовательской деятельности В.И. Швеца – разработка химических и биотехнологических методов получения и выделения из природных источников веществ липидной природы и других биологически важных соединений, их макромолекулярных комплексов, исследование их химических и биологических свойств. Это направление деятельности он эффективно сочетает ныне с организационной работой в качестве заведующего кафедрой, а в предшествующий период как декан факультета биотехнологии и органического синтеза и проректор по учебной работе МИТХТ. Много труда вложил В.И. Швец в педагогическую деятельность по подготовке высококвалифицированных специалистов по направлению “Биомедицинская технология” (бакалавры, магистры, инженеры, специалисты высшей квалификации – кандидаты и доктора наук).

При его непосредственном участии создана и внедрена современная концепция вузовского и послевузовского образования в области лекарственных технологий. В последнее время под его руководством в плане современных задач совершенствования в России фармацевтической промышленности создана современная магистерская программа «Технология биофармацевтических препаратов».

В.И. Шве́ц является создателем и руководителем признанной научно-педагогической школы в области конструирования лекарственных и диагностических препаратов. Под его руководством защищено 86 кандидатских диссертаций, при подготовке 19 докторских диссертаций он был научным консультантом. На кафедре за 25 лет работы подготовлено свыше 2300 инженеров, бакалавров, магистров.

Главные научные интересы академика В.И. Шве́ца связаны с разработкой методов выделения, химического и химико-ферментативного синтеза основных типов природных липидов, их комплексов с белками, пептидами, нуклеотидами и т.д. Под его руководством создана методология исследования структуры и свойств биологических мембран и их моделей, проведено изучение взаимодействия ряда веществ с мембранами. Большая серия липидов природной и модифицированной структуры в сотрудничестве с биохимиками и фармакологами протестирована в качестве эффективных регуляторов клеточной активности, иммуномодуляторов, ингибиторов ферментов, изучена их фармакологическая активность.

Особо следует отметить разработку, проведенную под руководством В.И. Шве́ца, подходов к конструированию новых медицинских и биохимических препаратов нанодиапазона на основе соединений липидной природы, в том числе препараты общеукрепляющего действия (липин, лиолив), препаратов для лечения онкологических и вирусных заболеваний (липосомальный доксорубин – липодокс, а также липофтор и липоплат), препаратов для коррекции иммунной системы, лечения органов дыхания и туберкулеза (липосомальные формы изониазида, рифабутина и рифампицина), гемолитической болезни новорожденных, комплексные системы для приготовления кровезаменителей, для парэнтерального питания. Созданы липосомальные препараты ДОФА и ДОФАмина для лечения болезни Паркинсона. Ряд этих препаратов внедрены в производство и используются в практической медицине, например, липодокс, липин, лиолив, другие находятся на различных стадиях изучения.

Общее число научных работ В.И. Шве́ца, выполненных им в соавторстве с сотрудниками и учениками, превышает 1100 публикаций. Среди них 13 монографий, 4 издания учебного пособия «Инженерные основы биотехнологии», сборники учебных программ для подготовки студентов по разделам бакалавриата, магистратуры, инженерных специальностей и специализаций, связанных с обучением по направлениям химии и технологии лекарственных веществ, аспирантуры; 76 авторских свидетельств и патентов СССР, РФ и зарубежных стран.

Много сил В.И. Шве́ц уделяет научно-организационной деятельности: он член экспертной комиссии по рассмотрению грантов Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых и по поддержке научных школ РФ, член Межведомственных Советов Минздравсоцразвития и РАМН по медицинской биотехнологии и биомедицинской химии, член секции «Биомедицинские технологии» Отделения медико-биологических наук РАМН, а также член научных советов РАН по проблемам биоорганической химии и биохимии, председатель секции «Биотехнология» учебно-методического объединения по химии Минобрнауки РФ, член экспертных советов Минобрнауки РФ, правительства Москвы, РФФИ, корпорации «Роснано».

Как член общества биотехнологов РФ он активно участвовал в подготовке проекта Национальной программы «Развитие биотехнологии в Российской Федерации». В.И. Шве́ц – председатель диссертационного совета по специальностям: органическая химия, биоорганическая химия, биотехнология, член редколлегии 5 научных журналов. Научный авторитет В.И. Шве́ца, его заслуги в общественной и педагогической деятельности получили высокое признание: в 1985 г. в составе научного коллектива он был удостоен Государственной премии СССР за цикл работ «Структура и функции липидов», в 2007 г. в составе коллектива педагогов и методистов удостоен премии Правительства РФ в области образования, в 1996 г. ему присвоено звание «Заслуженный деятель науки РФ». Он отмечен рядом правительственных наград (2 ордена, в том числе «За заслуги перед Отечеством IV степени»).

*Редколлегия Российского Биотерапевтического Журнала
Друзья и коллеги*

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ В «РОССИЙСКОМ БИОТЕРАПЕВТИЧЕСКОМ ЖУРНАЛЕ»

Работа может быть статьей экспериментального или клинического характера, теоретической или концептуальной, обзором по материалам литературы, рецензией, сообщением дискуссионного, исторического или хроникального характера, рефератом зарубежных работ.

Статьи экспериментального или клинического характера имеют разделы: Резюме; Введение; **Материалы и методы; Результаты и обсуждение; Выводы (Заключение); Литература.**

Обзоры литературы, статьи теоретического и концептуального характера имеют разделы: **Резюме; Введение; Разделы по отдельным обсуждаемым вопросам; Выводы; Литература.**

Статья должна быть представлена в виде файла формата RTF на дискете или CD и распечатана в 2 экземплярах. На внешней стороне дискеты или коробке CD должны быть указаны фамилия первого автора, названия статьи и файлов.

В основном файле должен содержаться текст статьи, таблицы, подписи и надписи к рисункам, список литературы. Кроме того, на дискете или CD должны быть записаны рисунки (каждый в виде отдельного файла).

Штриховые и тоновые рисунки (фотографии, рентгенограммы и т.д.), то есть растровая графика, должны быть сохранены в виде файлов формата TIF или JPEG, графики и диаграммы (векторная графика) – в виде файлов формата EPS. Если автор не работает с современными программными пакетами для создания векторной графики, можно прислать график в виде файла Microsoft Excel 5.0/95 с обязательным приложением в виде таблицы, по которой данный график построен.

Обзорные статьи не должны превышать 17 страниц, оригинальные статьи – 12 страниц.

Весь текст должен быть набран шрифтом Times New Roman 12 через полуторный интервал. Текст должен быть выровнен по левому краю.

Все страницы должны быть пронумерованы. Номер страницы должен быть расположен внизу справа, начиная со второй. Каждый абзац должен начинаться с красной строки, которая устанавливается меню «Абзац».

Не следует использовать для красной строки клавишу Tab. Десятичные дроби следует писать через запятую. При наборе текста следует различать дефис и тире. Последнее вводится одновременным нажатием клавиш Ctrl+Alt+дефис с дополнительной клавиатуры при горящем указателе Num Lock.

Набирая заголовки, названия разделов, таблиц, подписи и надписи на рисунках, точку в конце ставить не нужно. Выравнивать по центру и устанавливать красную строку для всего перечисленного также не нужно.

В начале статьи следует указать *имя, отчество и фамилии авторов* полностью, **НАЗВАНИЕ СТАТЬИ**, место работы в именительном падеже (если авторы работают в разных учреждениях, уточнить это дополнительно), должность и контактную информацию для каждого автора (почтовый **адрес, e-mail**). Авторы несут ответственность за точность предоставляемой ими информации о себе и месте своей работы.

В начале статьи должно быть приведено **Резюме**. В нем должны быть кратко без рубрики указаны цель исследования, материалы и методы, полученные автором результаты и основные выводы. В конце резюме автор приводит **Ключевые слова** работы (не более 5). Рекомендуемый объем реферата – 500–1000 печатных знаков. Отступление от этой схемы допустимо только в отношении обзорных статей.

Далее необходимо на английском языке дать фамилии авторов и их инициалы, название статьи, название учреждений, резюме (**Abstract**) и ключевые слова (**Key words**).

Статья должна быть написана ясно, четко, лаконично, тщательно выверена авторами, не содержать повторов и исправлений. Сокращения допустимы только в отношении часто встречающихся в статье терминов. Сокращение вводится при первом вхождении в круглых скобках и в дальнейшем используется по всему тексту.

Не следует параллельно использовать термин и его сокращение. Если сокращений больше 10, следует вводить список сокращений. В статьях должна использоваться система СИ. В тексте должны быть указаны ссылки на таблицы и рисунки, например, **(табл. 1); (рис. 1)** или **на рис. 1 представлены...** Они должны быть размещены в соответствующих по смыслу абзацах и последовательно пронумерованы. Рисунки и таблицы нумеруются отдельно.

Таблицы должны быть компактными, иметь название, не повторять графики, не должны содержать пустых ячеек (отсутствие данных должно отмечаться тире, «нет данных» или специальным примечанием). Все уточнения и локальные сокращения выносятся в примечания. Таблицы набираются тем же шрифтом, что и основной текст статьи с выравниванием по левому краю, без переносов и красных строк. Точку после последнего слова в ячейке ставить не нужно. Примечания к таблицам выносятся в последней строке таблицы тем же шрифтом. Каждое примечание должно располагаться с новой строки, помечено надстрочной цифрой, которая отделяется от текста примечания пробелом. В конце каждого примечания ставится точка. Примечания нумеруются в соответствии с их появлением в таблице: сверху вниз и слева направо. Размер каждого рисунка (даже если они смаскетированы вместе) должен быть не менее 10 × 15 см. Рентгенограммы должны быть представлены в негативном изображении. Иллюстрации сканируют в масштабе 100 % с разрешением 300 dpi. Рентгенограммы, сонограммы, фотографии сканируют в режиме «Gray».

Если под одной подписью планируется несколько рисунков, каждый должен быть прислан отдельно и соответствовать указаным выше требованиям по качеству.

Графики и схемы нельзя перегружать надписями. Подпись к рисунку должна быть лаконичной, точно соответствовать его содержанию. Если несколько рисунков идут под общей надписью, то сначала приводят ее, а затем названия отдельных рисунков под русскими буквами.

В подписях под рисунками должны быть объяснены все кривые, буквенные, цифровые и другие условные обозначения. В подписях под микрофотографиями следует указать методику микроскопии, увеличение, метод окраски материала. Если иллюстрация заимствуется из другого источника, в конце подписи следует дать на него ссылку. На печатном экземпляре рисунки нумеруют, помечают верх и низ.

Все формулы должны быть тщательно выверены автором, набраны или встроены в формат текстового редактора. В формулах необходимо различать строчные и прописные, латинские и греческие, подстрочные и надстрочные буквы. Используемые автором сокращения должны быть разъяснены под формулой.

Список литературы должен быть кратким и содержать не более 20 ссылок для статей, посвященных экспериментальным и клиническим исследованиям, и не более 100 ссылок для обзорных статей. Номера ссылок указывается в квадратных скобках через точку с запятой.

В списке литературы в алфавитном порядке перечисляются курсивом *фамилии и инициалы авторов* на русском языке, затем на иностранных языках.

Все библиографические ссылки в тексте должны быть пронумерованы в соответствии с их положением в списке литературы. Фамилии иностранных авторов приводятся в оригинальной транскрипции. В список литературы не включаются ссылки на неопубликованные работы и учебники. Ссылки должны быть тщательно выверены авторами, которые несут ответственность за правильность приведенных данных.

Если авторов не более четырех, они упоминаются все, при большем числе авторов перечисляются первые три, далее пишется *и др.* или *et. al.*

При ссылке на книгу следует указывать авторов, затем название книги, номер издания, издательство (может отсутствовать), год и страницы (если автор ссылается на всю книгу, то пишется 150 с., если на ее часть, то указывается С. 143-8.), например:

Руководство по гематологии под ред. А.И. Воробьева. – Т. 2. – М.: Ньюдиамед, 2004. – 277 с.
Bihrl R., Libertino J.A. Renal cell cancer with extension into the vena cava. In: Dekernion B.J., Pavone-Macaluso M. eds., Tumors of kidney. – Baltimore: Williams&Wilkins, 1986. – P. 111–123.

При ссылке на главу из книги, написанной коллективом авторов, указывают авторов главы и ее название, затем авторов или редакторов книги, название книги, номер издания (может отсутствовать), место издания, издательство (может отсутствовать), год и страницы, например:

Кэйн Д. Этические и правовые основы медицинской помощи. Берек Д., Адаши И., Хиллард П. (ред.). Гинекология по Эмилю Новаку: Пер. с англ. – М.: Практика, 2002. – С. 14-18.

При ссылке на журнал указывают авторов, затем название статьи, названию периодического издания или сборника предшествует символ //. После названия журнала указывается год, том, номер выпуска, первая и последняя страницы работы, например:

Поддубная И. В., Дёмина Е. А. Диагностика и определение распространенности (стадирование) неходжкинских лимфом // Практическая онкология. – 2004. – № 3. – С. 176–184.

При ссылке на сборник статей указывают авторов, затем название статьи, сборника, место издания, год, страницы, например:

Коненко Г. А. Решение уравнений движения однофазного вязкого закрученного потока в длинной трубе. Отопление и вентиляция. – Иркутск, 1994. – С. 34–36.

При ссылке на тезисы докладов указывают авторов, затем название тезисов конференции, страницы. При ссылке на диссертации или авторефераты указывают автора, затем название диссертации, место и дату написания, страницы. При этом используются следующие сокращения: Дис... канд. мед. наук, Дис... д-ра мед. наук, Авторефер. дис... канд. мед. наук, Авторефер. дис... д-ра мед. наук. Ссылки на интернет-документы следует оформлять так:

Официальные периодические издания: электронный путеводитель / Рос. нац. б-ка, Центр правовой информации. [СПб.], 2005 – 2007. URL: <http://www.nlr.ru/lawcenter/izd/index.html> (дата обращения: 18.01.2007).

Логинова Л.Г. Сущность результата дополнительного образования детей // Образование: исследовано в мире: междунар. науч. пед. интернет-журн. 21.10.03. URL: <http://www.oim.ru/reader.asp?nomer=366> (дата обращения: 17.04.07).

Рынок тренингов Новосибирска: своя игра [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://nsk.adme.ru/news/2006/07/03/2121.html>

В тексте рекомендуется использовать международные названия лекарственных средств, которые пишутся с маленькой буквы. Торговые названия препаратов пишутся с большой буквы.

В конце статьи должны стоять подписи всех авторов. На отдельном листе авторам следует указать почтовый адрес для переписки, включающий почтовый индекс, телефон(ы), факс и адрес электронной почты. Все статьи, поступившие в редакцию, подлежат рецензированию. Рецензенты для каждой статьи назначаются редакционной коллегией. Если рецензенты и редакторы предлагают исправить работу, то копия с таким предложением отправляется автору. Эта копия возвращается вместе с переработанным экземпляром, который представляется на бумаге и в электронном виде.

Редакция оставляет за собой право отклонить работу из-за несоответствия профилю и требованиям журнала, достоверности и объективности данных, наличия ошибок или неподкрепленных достоверными фактами деклараций, противоречащих современным научным представлениям и опыту.

Редакция журнала осуществляет научное и литературное редактирование статей, обязуется информировать авторов обо всех смысловых изменениях, возникающих при редактировании их работ (это не касается литературной правки).

Статьи, ранее опубликованные в других журналах или сборниках, не будут приняты к публикации.

*С уважением,
главный редактор А.Ю. Барышников*

СПИСОК ПРИНЯТЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АФК – активные формы кислорода
 АЛС – антилимфоцитарная сыворотка
 АТГ – антитимоцитарный глобулин
 БКС – бинарная каталитическая система
 ВКМ – внеклеточный матрикс
 ВРПС – водорастворимые полисахариды
 ВМ – Васкулогенная мимикрия
 ВЧД – внутричерепное давление
 ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография
 в/б – внутрибрюшинно
 в/в – внутривенно
 ГК – гепатоцеллюлярная карцинома
 бГК – быстрорастущая дедифференцированная
 гепатоцеллюлярная карцинома
 мГК – медленно растущая гепатоцеллюлярная карцинома
 ГПВ/GPV – гликопептидная противоопухолевая вакцина
 (glycopeptide cancer vaccine)
 ДМБА – диметил- α -бензантрацена
 ЗНО – злокачественные новообразования
 ЗО – злокачественное образование
 ИДМ – иммунодефицитные мыши
 ИФН- γ – интерферон гамма
 ЛТ – лучевая терапия
 МИБТ – медицинские иммунобиологические препараты
 МЛ – моноклеарные лейкоциты
 ММ – метамиелоцит(ы)
 МКА – моноклональные антитела
 ММ – множественная миелома
 МРЛ – мелкоклеточный рак легкого
 ММП – матриксные металлопротеиназы
 МРТ – магнитно-резонансная томография
 НК – натуральные киллеры
 НМРЛ – немелкоклеточный рак легкого
 НПАВ – неионогенные поверхностно-активные вещества
 НПТ – наилучшая поддерживающая терапия
 НСПВС – нестероидные противовоспалительные средства
 НХЛ – неходжкинская лимфома
 Обо – объективный ответ
 ОДС – оптическая диффузионная спектроскопия
 ОО – отсутствие ответа
 ОКТ – оптическая когерентная томография
 ОЦ – окисленный целлюлоз
 ОЦК – объем циркулирующей крови
 ОП – опухолевой плеврит
 ОМ – опухолеассоциированные маркеры
 РМЖ – рак молочной железы
 МР РМЖ – местнораспространенный
 рак молочной железы
 ОИФ РМЖ – отечно-инфильтративная форма
 рака молочной железы
 РЭС – ретикулоэндотелиальная система
 ПВП – поливинилпирролидон
 ПД – пролиферация и дифференцировка
 ПЗ – прогрессирование заболевания
 ПО – полный ответ
 ПОПР – полиоксипропилен
 ПФОС – перфторорганические соединения
 ППК – первичные половые клетки
 ПК – периферическая кровь
 ПХТ – полихимиотерапия
 ПЯ – палочкоядерный
 КРР – колоректальный рак
 КЭР – кардиоэзофагеальный рак

РКТ – рентгеновская компьютерная томография
 РЛ – рак легкого
 РМП – рак мочевого пузыря
 РМЖ – рак молочной железы
 РПК – рак прямой кишки
 РПЖ – рак поджелудочной железы
 РЭ – рецепторы эстрогенных гормонов
 РЭМП – расширенная экстирпация матки с придатками
 РЧА – эффективность радиочастотной абляции
 РШМ – рак шейки матки
 СЗП – свежемороженая плазма
 СПС – сосудисто-подобные структуры
 СПЖ – средняя продолжительность жизни
 СЯ – сегментоядерный
 ТИМП – тканевые ингибиторы
 ТСХ – тонкослойная хроматография
 ТЭС – телячья эмбриональная сыворотка
 УЗКТ – ультразвуковая компьютерная томография
 ФГА – фитогемагглютинин
 ФД – флуоресцентная диагностика
 ФС – фотосенс
 ФСБ – фосфатно-солевой буфер
 ФСП – фармакопейная статья предприятия
 ФТС – фетальная телячья сыворотка
 ХГ – хорионический гонадотропин
 ХЛЛ – хронический лимфоцитарный лейкоз
 ХТ – химиотерапия
 ЛСП – лимфосаркома Плисса
 ЦП – цисплатин
 ЦФ – циклофосфан
 ЧО – частичный ответ
 ШМ – шейка матки
 ЭФР – эпидермальный фактор роста
 ЭК – эндотелиальные клетки

ADMET – drug administration, distribution, metabolism, excretion,
 and toxicological studies
 ASCUS – atypical squamous cells of undetermined significance
 BDFI – bioactivity-directed fractionation and isolation
 CIN – cervical intraepithelial neoplasia
 (цервикальные интраэпителиальные неоплазии)
 COX – циклооксигеназа
 CRC – colorectal cancer
 EPR effect – enhanced permeability and retention effect
 (эффект повышения проницаемости и удерживания)
 FLICE – cellular Fas-associated death domain-like
 interleukin-1beta-converting enzyme
 GAP – Good Agricultural Practice
 GMP – Good Manufacturing Practice
 GCP – Good Clinical Practice
 LDCI – Lomustine-Dacarbazine-Cisplatin-Ingaron
 LLC – lung Lewis carcinoma (карцинома легких Льюиса)
 LSIL – low-grade intraepithelial lesions
 Mw – molecular weight (молекулярный вес)
 NTA – nitril triacetate acid (нитрилтрехуксусная кислота)
 IGFBP – insulin-like growth factor binding protein
 HER – human epidermal growth factor receptor
 HSIL – high-grade intraepithelial lesions
 Ph – филадельфийская хромосома
 TGF – Transforming Growth Factors (трансформирующие факторы роста)
 VEGF – Vascular Endothelial Growth Factor